



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ**

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

**ÚSTAV FYZIKÁLNÍHO INŽENÝRSTVÍ**

INSTITUTE OF PHYSICAL ENGINEERING

**KOHERENCÍ ŘÍZENÝ HOLOGRAFICKÝ MIKROSKOP S  
DIGITÁLNÍ OPTIKOU**

COHERENCE CONTROLLED HOLOGRAPHIC MICROSCOPE WITH THE DIGITAL OPTICS

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Bc. Jana Vavřínová**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**Ing. Zbyněk Dostál, Ph.D.**

**BRNO 2018**



# Zadání diplomové práce

Ústav:	Ústav fyzikálního inženýrství
Studentka:	<b>Bc. Jana Vavřinová</b>
Studijní program:	Aplikované vědy v inženýrství
Studijní obor:	Přesná mechanika a optika
Vedoucí práce:	<b>Ing. Zbyněk Dostál, Ph.D.</b>
Akademický rok:	2017/18

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma diplomové práce:

## Koherencí řízený holografický mikroskop s digitální optikou

### Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Současné podoby Koherencí řízeného holografického mikroskopu (CCHM) jsou vybaveny pouze konvenčními optickými prvky. Tato práce bude spočívat v návrhu optické soustavy interferometru, který bude využívat digitální optický prvek (DMD pole). Pomocí něho bude možno například upravovat zobrazovací vlastnosti optické soustavy a vytvářet nové pozorovací módy.

### Cíle diplomové práce:

- 1) Navrhnout podobu optické cesty CCHM mikroskopu.
- 2) Zvolit umístění DMD pole v optické soustavě CCHM mikroskopu tak, aby bylo možno upravovat jeho zobrazovací vlastnosti.
- 3) Zvolit a proměřit výstupní objektivy a experimentálně ověřit zobrazovací část mikroskopu.
- 4) Vytvořit kompletní optický model mikroskopu.
- 5) Ověřit trasováním zobrazovací vlastnosti CCHM mikroskopu s digitálním optickým prvkem.

### Seznam doporučené literatury:

SLABÝ, T. et al. Off-axis setup taking full advantage of incoherent illumination in coherence-controlled holographic microscope. Opt. Express 21, 14747-14762 (2013).

ISHIZUKA, K. Optimized sampling schemes for off-axis holography. Ultramicroscopy, 1993, 52.1: 1-5.

DUDLAY, D. et al. Emerging digital micromirror device (DMD) applications. Proc. SPIE 4985, MOEMS Display and Imaging Systems, (20 January 2003).

FUKA, J. , HAVELKA, B. Optika a atomová fyzika: fyzikální kompendium pro vysoké školy. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1961.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2017/18

V Brně, dne

L. S.

---

prof. RNDr. Tomáš Šikola, CSc.  
ředitel ústavu

---

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.  
děkan fakulty



## **Abstrakt**

Technologie digitálního mikrozrcátkového systému (DMD, z anglického Digital Micromirror Device) byla vyvinuta zejména pro DLP (Digital Light Processing) projektory, které umožňují promítání obrazu. Po této velmi úspěšné aplikaci, díky komerční dostupnosti a nízké ceně DMD čipu, se naskytlo mnoho dalších možností. Mimo jiné je možné jej využít i v mikroskopii jako prostorový modulátor světla. Konkrétně v Koherenci řízeném holografickém mikroskopu (CCHM, Coherence-Controlled Holographic Microscope), který nachází uplatnění zejména pro zobrazování a měření dynamiky živých buněk. DMD čip, umístěný v osvětlovací části CCHM, umožní jeho širší využití. Mezi ně patří například experimenty s různými módy osvětlení a pro tomografické aplikace. V diplomové práci je pojednáno o optickém návrhu podoby optické cesty CCHM s DMD čipem. Je popsán výběr optických prvků pro CCHM, experimentální ověření zobrazovací soustavy a postup při návrhu osvětlovací soustavy mikroskopu. V závěru práce jsou provedeny analýzy čtyř návrhů pro osvětlovací část mikroskopu s DMD čipem v objektové větvi, které jsou mezi sebou porovnány.

## **Summary**

The Digital Micromirror Device (DMD) technology has been developed especially for Digital Light Processing projectors, which allow the image projection. After this successful implementation, and thanks to the commercial availability and low initial cost of the DMD chip, a wide range of other applications became possible. Besides, it may be used in microscopy as a spatial light modulator. For example in Coherence-Controlled Holographic Microscope (CCHM) that finds its use especially for imaging and measurement of live-cell dynamic processes. The DMD chip placed in the illumination part of CCHM allows for broadening the application possibilities. Namely it could be different illumination mode experiments or tomographic applications. The master's thesis deals with the optical design of CCHM with digital optics, i. e. DMD chip. The selection of optical elements for CCHM, the experimental verification of the imaging setup and the process of designing the illumination part are described in detail. In the end, the analysis of different designs for illumination setup with the digital optics in object arm is carried out and the results are compared.

## **Klíčová slova**

Světlo nízké koherence, interferometrie, holografický mikroskop, digitální optika, DMD čip, návrh.

## **Keywords**

Low-coherent light, interferometry, holographic microscope, digital optics, DMD chip, design.



VAVŘINOVÁ, J. *Koherencí řízený holografický mikroskop s digitální optikou*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2018. 59 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Zbyněk Dostál, Ph.D.



## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci vypracovala samostatně, za odborného vedení Ing. Zbyňka Dostála, Ph.D., a všechny podklady jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

.....  
V Brně dne 25. května 2018



Děkuji Ing. Zbyňkovi Dostálovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, pomoc a trpělivost.  
Tímto také děkuji své rodině za podporu při studiu.





# Obsah

Úvod	3
<b>1 Teoretický úvod</b>	<b>5</b>
1.1 Interference světla . . . . .	5
1.2 Interferenční mikroskopie . . . . .	6
1.3 Holografie . . . . .	7
1.4 Holografická mikroskopie . . . . .	7
1.5 Záznam a rekonstrukce hologramu . . . . .	10
1.5.1 Optická holografie . . . . .	10
1.5.2 Digitální holografie . . . . .	11
1.6 Numerické zpracování hologramu . . . . .	11
<b>2 Digitální optické prvky</b>	<b>13</b>
2.1 Prostorový modulátor světla . . . . .	13
2.2 Digitální mikrozrcátkový systém . . . . .	14
<b>3 Motivace a cíle práce</b>	<b>17</b>
<b>4 Zobrazovací část CCHM</b>	<b>19</b>
4.1 Testovací jednotka . . . . .	21
4.2 Výsledky experimentálního měření výstupních objektivů . . . . .	23
4.3 Sestavení výstupní optické soustavy CCHM . . . . .	24
4.4 Model výstupní soustavy . . . . .	25
<b>5 Osvětlovací část CCHM</b>	<b>27</b>
5.1 První návrh . . . . .	29
5.2 Druhý návrh . . . . .	32
5.3 Třetí návrh . . . . .	41
5.4 Čtvrtý návrh . . . . .	48
5.5 Shrnutí návrhů . . . . .	54
<b>Závěr</b>	<b>55</b>



# Úvod

Holografie je velmi pokročilou metodou zobrazování. Její název pochází z řeckého holos - úplný a grafie - záznam, což naznačuje, že k dvojrozměrné informaci, kterou získáváme z běžné fotografie, dostáváme informaci i o hloubce pozorovaného objektu. Na rozdíl od klasické fotografie tedy nese informaci nejen o intenzitě, ale také o fázi světla odraženého nebo procházejícího zobrazovaným předmětem. Této výhody se využívá právě v holografické mikroskopii. V technických oborech nachází využití při pozorování tenkých vrstev a mikrostruktur. Velký význam má především v biologii, kde se jí využívá pro zobrazování fázových objektů. Fázové objekty mění zejména fázi procházející nebo odražené světelné vlny, přičemž neovlivňují její amplitudu. Velmi častým objektem jsou v této oblasti živé buňky, které jsou tvořeny z vody a její index lomu se tak neliší od indexu lomu okolního prostředí, a ze suché hmoty, která má index lomu jiný [1].

Na Vysokém učení technickém v Brně se řadu let vyvíjí Koherencí řízený holografický mikroskop (CCHM), který je nyní i komerčně dostupný. Současné podoby CCHM jsou vybaveny pouze konvenčními optickými prvky, jako jsou děliče světla, digrakční mřížky, zrcadla a zobrazovací optika.

Naším cílem bylo vložit do těla mikroskopu digitální optický prvek, tedy digital micromirror device (DMD čip) [2], což je spojení mikroelektronického mechanického systému a prostorového modulátoru světla. Skládá se z tisíců pohyblivých zrcátek, která jsou uložena na čipu CMOS a ovládána z obslužného počítače. Zrcátka jsou vysoce odrazivá a jsou používána k modulaci intenzity světla tak, že se vychylují dopadající paprsky. Pomocí DMD čipu bude možno například upravovat zobrazovací vlastnosti optické soustavy a vytvářet tak nové pozorovací módy. Můžeme je využít například pro tomografii a aplikaci různých osvětlovacích masek.

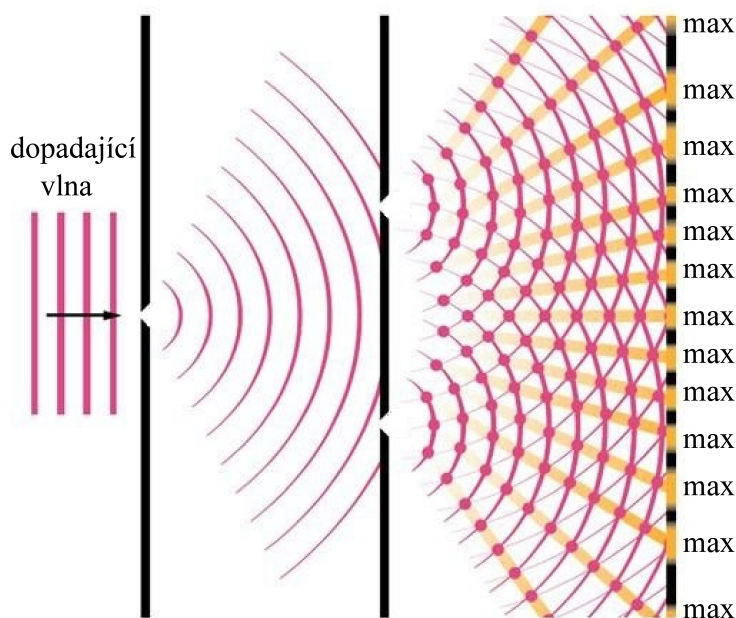


# 1 Teoretický úvod

## 1.1 Interference světla

Povahou světla se vědci zabývali již v 17. století, kdy vznikla první teorie. Světlo považovala za energii šířící se všudypřítomnou látkou, tzv. éterem. Za korpuskulární teorii světla [3] stojí Isaac Newton (1643 - 1727). Ta chápe světlo jako částici. Oproti tomu vlnová teorie světla [3] považuje světlo za vlnu, což propagoval Christian Huygens (1629 - 1695). Zejména díky Newtonově autoritě byla zpočátku širokou odbornou veřejností hojně přijímána teorie částicová. Avšak v 19. století došlo k zásadnímu zvratu.

Polyhistor Thomas Young (1773 - 1829) a fyzik Augustin-Jean Fresnel (1788 - 1827) prováděli pokusy s difrakcí světla. Ohybem světla na velmi malých symetrických otvorech či překážkách dochází na stínítku k interferenci (vzájemné skládání vln) a vytváří tak ohybový obrazec, viz obrázek 1. Tento experiment, nyní známý jako Youngův z roku 1801 [3], nelze vysvětlit pomocí korpuskulární teorie a proto se vědci přiklonili k vlnové teorii světla. Fresnelovy pokusy v následujících letech poté potvrzovaly, že světlo má povahu vlnění.



Obrázek 1: Youngův experiment. Převzato a upraveno z [4].

V roce 1865 se James Clerk Maxwell (1831 - 1879) věnoval problematice v oblasti elektřiny a magnetismu [5]. Do svých rovnic sjednotil poznatky Faradaye, Ampéra a Coulumba a jedním z řešení je i elektromagnetická vlna, tedy světlo jak ho známe. Dokázal, že světlo je zvláštní případ elektromagnetického vlnění, čímž spojil optiku s elektromagnetismem. Vypracoval celou teorii elektromagnetického pole, která souhlasila s již ověřenými fakty a zákony.

S přihlédnutím ke kvantové hypotéze [6], kterou vyslovil Max Karl Ernst Ludwig Planck (1858 - 1947; Nobelova cena v roce 1918), dále teorii fotoefektu [?] od Alberta Einsteina (1879 - 1955; Nobelova cena v roce 1921) a Comptonově jevu [7] (Arthur Holly Compton, 1892 - 1962; Nobelova cena v roce 1927), všechny z 20. století, je nutné připustit, že se foton chová jako částice a zároveň i jako vlna. Takový stav se nazývá korpuskulárně vlnový dualismus.

## 1.2 Interferenční mikroskopie

Prvním praktickým využitím interference se stal interferometr. Již na konci 19. století jej sestavil Albert Abraham Michelson (1852 - 1931) a sloužil k metrologickým účelům [8].

Zobrazování fázových objektů pomocí interference se zabýval J. A. Sirks. V roce 1893 navrhl první interferenční mikroskop s odděleným objektovým a referenčním svazkem [9, 10]. Objektovým svazkem myslíme tu část světla, která prochází objektem, a druhá část světla, referenční svazek, prochází referenční rovinou. K opětovnému spojení dojde na výstupu mikroskopu, kde svazky interferují. Podobně smýšlel i Ernst Pringsheim a pět let po Sirksovi publikoval obdobný koncept [10].

Mikroskopy využívající interferenci světla se obecně dělí do dvou základních skupin podle úhlu mezi objektovým a referenčním svazkem, které spolu interferují. Pokud je úhel nulový, mluvíme o in-line nebo-li o interferenční mikroskopii. Pokud větve svírají nenulový úhel, mluvíme o off-axis, tedy o holografické mikroskopii, viz část 1.4.

V průběhu 20. století se začala interferenční mikroskopie rozvíjet a byly navrženy desítky různých variant těchto přístrojů. První komerčně vyráběné mikroskopy se zcela oddělenými optickými cestami se objevily v 50. letech 20. století. Mezi jejich autory patří Krug, Laue a Horn [11]. K dalšímu vývoji interferenční mikroskopie došlo v souvislosti s vynálezem laseru v roce 1960 a také ve spojení s velkým rozvojem výpočetní techniky na konci 20. století. Interferenční mikroskopie se tak začala využívat zejména na zobrazování živých buněk bez rizika poškození preparátu, například při použití barviv. Využitím optického dráhového rozdílu (Optical Path Difference, dále jen OPD), ovlivněného vzorkem, je možné zjistit množství suché buněčné hmoty, a tím vyhodnotit změnu hustoty vnitrobuněčné hmoty [12].

Použitím nekoherentního zdroje světla v interferenčním mikroskopu lze zabránit vzniku nežádoucích artefaktů v obrazu, jakým je například koherenční zrnitost a interference difraktovaných svazků světla na nečistotách a aperturách optických prvků. Pro rekonstrukci vlny je však nutné zaznamenat alespoň tři snímky s různým vzájemným fázovým posuvem [13], a proto nelze interferenční mikroskop využít pro sledování dynamických procesů.

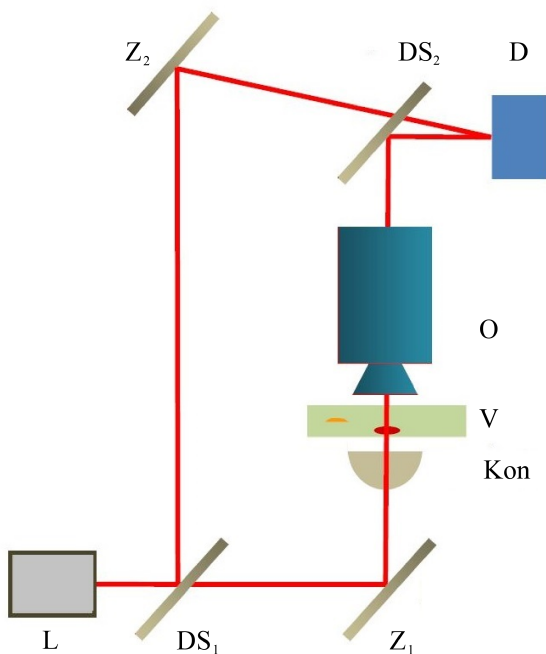
Typickými příklady interferenčních mikroskopů jsou Hornův interferenční mikroskop (1958), který posouvá fázi v referenční větvi pomocí soustavy hranolů, a Jamin-Lebedeffův (60. léta 20. století), jenž k vytvoření dvou oddělených větví využívá polarizace světla.

### 1.3 Holografie

Objevitelem principu holografie byl maďarský fyzik Dennis Gabor už v roce 1948 (Nobelova cena v roce 1971) [14], který pracoval na zdokonalování elektronového mikroskopu. Položil teoretické základy a prováděl základní experimenty, nicméně nedosahoval velkých výsledků z důvodu použití nekoherentních zdrojů světla. Výzkum tedy ustrnul až do roku 1960, kdy došlo k objevení laseru. V této době se do práce pustili vědci z Michiganské univerzity (Emmet Leith a Juris Upatnieks, [15]) a vytvořili první trojrozměrný holografický záznam. V něm spočívá výhoda holografické mikroskopie, tedy že ze získaného hologramu, jediného snímku, je možné pomocí rekonstrukce získat amplitudu i fázi objektové vlny.

### 1.4 Holografická mikroskopie

Historicky první off-axis holografický mikroskop dovoľoval plnou rekonstrukci vlny pomocí optických metod [16], viz část 1.5.1. V současné době je třeba k rekonstrukci fáze vlny využít počítač, viz část 1.6, proto až s vývojem výkonného hardwaru vznikl první použitelný mikroskop [17]. Možnost rekonstruovat vlnu jen z jednoho snímku zvyšuje rychlost snímkování a je vhodnější pro sledování dynamických procesů. Oba mikroskopy využívají shodného interferometru a koherentního laserového osvětlení. Liší se pouze tím, že v současných mikroskopech je nahrazena holografická deska digitálním detektorem, viz obrázek 2. Laserový zdroj ale ovlivňuje kvalitu zobrazení. Vzniká koherenční šum a zaznamená se i difrakce na aperturách čoček. Vlivem těchto vad je hologram poškozený, čímž je zhoršena kvalita výsledného fázového kontrastu.

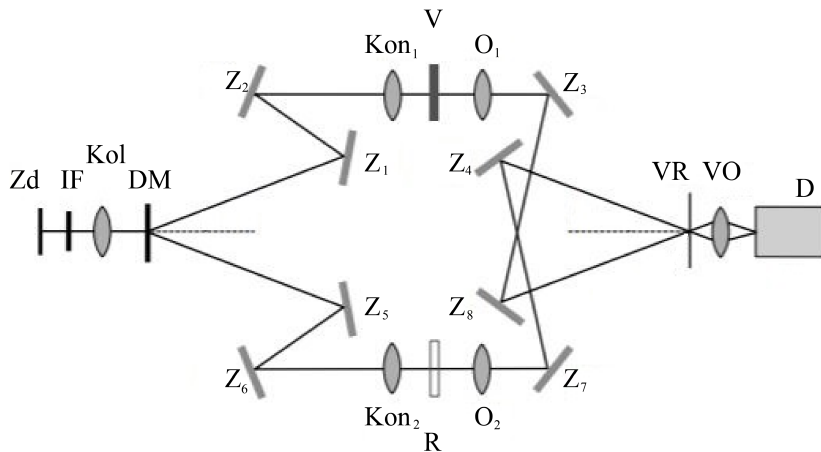


Obrázek 2: Laserový holografický mikroskop. Laser  $L$ , děliče svazků  $DS$ , zrcadla  $Z$ , kondenzor  $Kon$ , pozorovaný vzorek  $V$ , mikroskopový objektiv  $O$ , detektor  $D$ .

Nežádoucí artefakty lze odstranit spojením výhod in-line a off-axis mikroskopů, pokud využijeme achromatický interferometr a zdroj s nízkým stupněm koherence. Vývojem achromatického holografického mikroskopu se dlouhodobě zabývá skupina Prof. RNDr. Radima Chmelíka, Ph.D. na Ústavu fyzikálního inženýrství Fakulty strojního inženýrství na VUT v Brně. Namísto laserového zdroje lze využít plošný polychromatický zdroj, tedy zároveň zdroj s nízkou časovou a prostorovou koherencí, jakým je například halogenová žárovka.

Jako první byla publikována práce o novém holografickém mikroskopu využívajícím nekoherentní světlo a achromatický interferometr v roce 1999 R. Chmelíkem a Z. Harnou [18]. Záměrem bylo docílit optických řezů jako v konfokální mikroskopii, ale bez potřeby rastrování. To nazýváme efektem hloubkové diskriminace, který je umožněn nenulovým úhlem mezi referenční a obrazovou větví. První mikroskop využíval reflexní mód a našel využití při přesném měření povrchů.

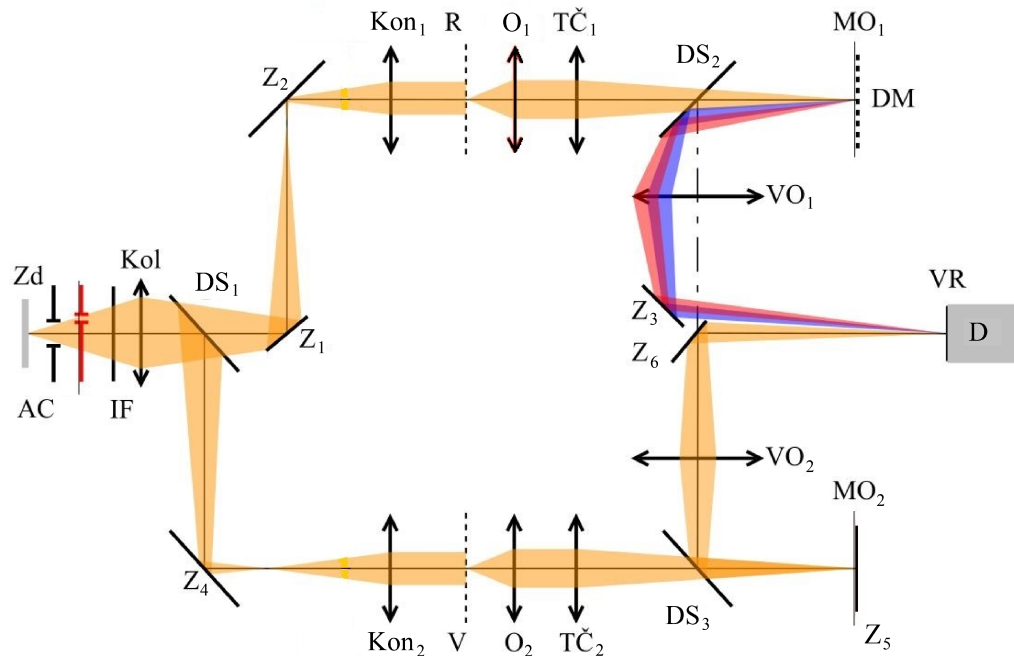
Vývoj pokračoval v rámci disertační práce Ing. Pavla Kolmana, Ph.D. Optické uspořádání je zobrazeno na obrázku 3. Jedná se o princip nekoherentní off-axis holografie. Hologram (interferenční struktura), který vzniká na detektoru D, je současně zobrazením roviny difrakční mřížky DM a lze jej vytvořit i nekoherentním světlem zdroje Zd [19, 20, 21]. Vlastnosti zobrazení je potom možné upravit dle typu pozorovaného vzorku vhodnou volbou koherence osvětlení, a proto byl pro jejich označení zaveden název Koherencí řízený holografický mikroskop (CCHM, z anglického Coherence-Controlled Holographic Microscope). Snižováním časové i prostorové koherence použitého světla se začínají projevovat konfokální vlastnosti způsobené principem koherenční brány [20], kdy se ztrácí nevýhody jako koherenční šum a parazitická interference. Transmisní uspořádání předurčovalo CCHM k pozorování biologických vzorků. Pomocí kvantitativního fázového kontrastu [22] je možné zobrazit buňky s dostatečným kontrastem bez použití fluorescenčních barviv.



Obrázek 3: Schéma prvního návrhu optické sestavy koherencí řízeného holografického mikroskopu. Zdroj světla Zd, neutrální a interferenční filtry IF, kolektor Kol, zrcadla Z, difrakční mřížka DM, mikroskopové objektivы sloužící jako kondenzory Kon, referenční rovina R, pozorovaný vzorek V, mikroskopový objektiv O, výstupní rovina VR, výstupní objektiv VO, detektor D. Převzato a upraveno z [20].



Jelikož byl mikroskop optimalizován pro vlnovou délku 650 nm, má omezenou spektrální účinnost. Druhou vadou bylo použití mikroskopových objektivů na místě kondenzorů, jejichž důsledkem je malý prostor pro umístění vzorku. Kvůli nedostatkům uvedeného mikroskopu bylo dalším krokem navrhnout nové řešení optické soustavy CCHM, které tyto nedostatky odstraňovalo, viz obrázek 4. Návrh byl založen na principu off-axis holografie s využitím difrakční mřížky DM pro zajištění achromaticity interferometru. Mřížka DM již nesloužila jako dělič svazků pro vytvoření předmětové a referenční větve, ale byla přesunuta do zobrazovací části mikroskopu. K rozdělení svazků bylo využito klasického děliče DS. Při návrhu optické soustavy bylo nutno se držet požadavků jako jsou časově a prostorově nekoherentní osvětlení a neomezená propustnost v celém viditelném spektru, viz [21].



Obrázek 4: Schéma druhého návrhu optické sestavy koherenci řízeného holografického mikroskopu. Zdroj světla Zd, aperturní clona AC, interferenční filtr IF, kolektor Kol, zrcadla Z, kondenzory Kon, referenční rovina R, mikroskopové objektivy O, tubusové čočky TČ, děliče svazků DS, roviny meziobrazů MO, difrakční mřížka DM, pozorovaný vzorek V, výstupní objektivy VO, výstupní rovina VR, detektor D. Převzato a upraveno z [23].

Nevýhodou všech CCHM je nutnost opticky identických větví interferometru. Nastavení mikroskopu je v tomto případě vysoce náročné, protože čím méně koherentní světlo je použito, tím je obtížnější, kvůli vysoké citlivosti, nastavení optické délky obou větví a jejich přesné koincidence v příčném směru ve výstupní rovině VR [23].

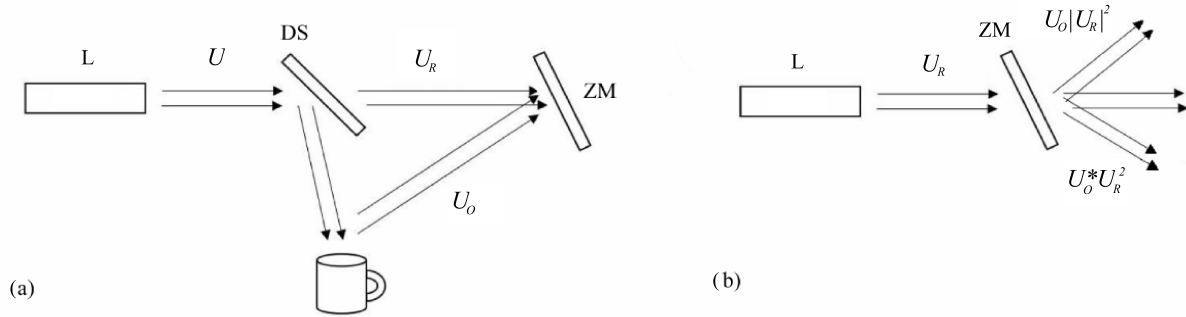
Z tohoto návrhu CCHM vychází návrh Multimodálního holografického mikroskopu (MHM), který byl vytvořen VUT ÚFI v Brně ve spolupráci s firmou TESCANA ORSAY HOLDING a.s., Brno, viz [24]. Změny byly provedeny pro zvýšení uživatelského komfortu. MHM dokáže pracovat ve třech módech zobrazení, a to transmisním, reflexním a epifluorescenčním.

## 1.5 Záznam a rekonstrukce hologramu

Základní princip metod, které umožňují vznik holografického záznamu zůstává prakticky stejný. Mění se pouze způsob provedení, typ použitých prvků a detekce spolu s rekonstrukcí obrazu. Proto lze holografii rozdělit do dvou základních skupin právě podle zmíněných hledisek na optickou holografii, digitální holografii.

### 1.5.1 Optická holografie

Optická holografie (OH) je historicky nejstarší metodou zaznamenávání hologramu. Vytvoření holografického záznamu a jeho rekonstrukce je výsledkem dvou po sobě prováděných optických experimentů [25].



Obrázek 5: Jednoduchá experimentální sestava pro holografický záznam: (a) vznik hologramu, (b) rekonstrukce hologramu. Laser L, světelná vlna  $U$ , dělič svazku DS, referenční vlna  $U_R$ , objektová vlna  $U_O$ , záznamové médium ZM.

Základní princip záznamu bude vysvětlen pomocí jednoduché optické sestavy složené z koherentního zdroje záření L, děliče světla DS a záznamového média ZM. Na obrázku 5(a) je uvedena optická sestava, která umožňuje vznik hologramu. Ze zdroje koherentního záření L vychází světelná vlna  $U$ , která dopadá na dělič světla DS, kde se dělí do dvou vln - procházející a odraženou. Prvou z nich označujeme jako referenční vlnu  $U_R$ . Druhá vlna se šíří směrem k předmětu, jehož hologram chceme vytvořit. Odrazem na tomto předmětu se vlna šíří s fázovými posuvy, které odpovídají tvaru předmětu a nazýváme ji objektovou vlnou  $U_O$ . Na záznamové rovině ZM spolu referenční vlna  $U_R$  a objektová vlna  $U_O$  interferují. Zde je získán záznam jejich interference. Výsledný součet vln označíme jako  $U = U_R + U_O$ . Zachycen je formou intenzitního záznamu v následujícím tvaru:

$$I = |U|^2 = |U_R|^2 + |U_O|^2 + U_R U_O^* + U_O U_R^*, \quad (1)$$

kde poslední dva členy označujeme jako interferenční a objevují se díky koherenci použitého záření, což je požadavek pro interferenci vln. Pokud bychom použili nekoherentní zdroj záření, ve vztahu by vystupovaly pouze kvadráty modulu obou vln.

Jako záznamové médium ZM lze použít desku s fotografickou emulzí. Před rekonstrukcí záznamu je nutné exponovanou desku vyvolat. Poté lze přistoupit k druhé části experimentu, rekonstrukci, viz obrázek 5(b). Princip spočívá v osvětlení vyvolané desky se záznamem referenční vlnou  $U_R$ , a to stejnou, jako byla použita při záznamu. Vyvolanou desku je nutné umístit do záznamové roviny, jinak by realizace rekonstrukce nebyla úspěšná.

Při provedení rekonstrukce je ukázán význam interferenčních členů. Difrakcí na zaznamenané intenzitní struktuře vzniká rekonstruovaný soubor vln  $U_{REK}$  a platí pro něj vztah:

$$U_{REK} = IU_R = (|U_R|^2 + |U_O|^2 + U_R U_O^*)U_R + U_O |U_R|^2. \quad (2)$$

Poslední člen tohoto vztahu obsahuje zpětně získanou objektovou vlnu  $U_O$ , která je násobená intenzitou referenční vlny  $U_R$ . Jak bylo řečeno výše, objektová vlna  $U_O$  nese informaci o prostorovém charakteru zobrazovaného předmětu. Jelikož je referenční vlna  $U_R$  rovinnou vlnou, pak intenzita  $|U_R|^2$  neovlivňuje tvar objektové vlny [26, 25]. Tímto posledním krokem jsme dosáhli rekonstrukce objektu.

### 1.5.2 Digitální holografie

Digitální holografie (DH) představuje moderní pokrok v holografických mikroskopických metodách. Příprava hologramu je provedena klasickým optickým způsobem, nicméně je zaznamenán digitálním detektorem, tedy optoelektronickým prvkem, který pracuje na principu fotoefektu. Čím větší intenzita záření na snímáč dopadá, tím v jeho jednotlivých částech dochází k většímu lokálnímu hromadění elektrického náboje. Informace je dále přenesena elektronicky, vzniká hologram v digitální podobě a je možné s ním dále pracovat. Konkrétně se provádí jeho numerická rekonstrukce, které se věnuje část 1.6.

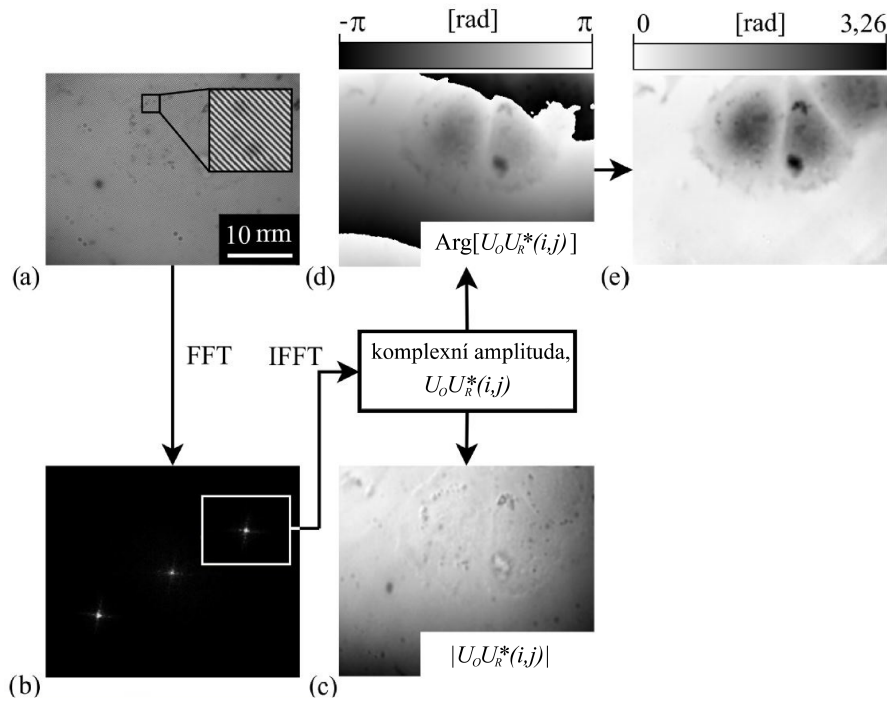
Hlavní výhodou DH je zjednodušení rekonstrukčního procesu, kdy odpadá nutnost vyvolání fotografického snímku a jeho zpětného umístění do soustavy. Metoda je tedy méně časově náročná na provedení experimentu než u OH.

## 1.6 Numerické zpracování hologramu

Numerické zpracování se provádí počítačovým softwarem, který využívá metody Fourierovy transformace. Aplikováním rychlé Fourierovy transformace (FFT) na hologram je získáno spektrum jeho prostorových frekvencí. Jak vidíme na obrázku 6(b), spektrum má tři komponenty, které odpovídají rovnici 1. Prostřední komponenta obsahuje prostorové frekvence součtu intenzit  $|U_R|^2 + |U_O|^2$  a je umístěna okolo nulté obrazové frekvence. Postranní pásma jsou vzdálena od nulté obrazové frekvence o hodnotu nosné frekvence  $f_c$ , která souvisí s frekvencí vrypů  $f_{DM}$  difrakční mřížky DM a s hodnotou zvětšení  $M_{VO}$  výstupního objektivu VO, jak vidíme na následujícím vztahu:

$$f_c = \frac{f_{DM}}{M_{VO}}. \quad (3)$$

Frekvence  $f_c$  je tudíž průměrnou hodnotou frekvencí interferenční struktury. Ze spektra je vybrána komponenta okolo nosné frekvence  $f_c$ , protože obsahuje prostorové frekvence obrazové vlny  $U_O U_R^*$ , případně jí komplexně združené vlny  $U_O^* U_R$ . Vlna  $U_R$  je konstantní po celém obrazovém poli. Velikost výběru je dána maximální prostorovou frekvencí, kterou mikroskop dokáže přenést. Výběr je vážen Hanningovou váhovou funkcí pro potlačení artefaktů způsobených FFT. Na upravený výběr aplikujeme inverzní Fourierovu transformaci (IFFT). Touto transformací získáme hodnoty komplexní amplitudy rekonstruované vlny  $U_O U_R^*(i, j)$  a z ní je možno vypočítat její fázi a intenzitu. Intenzitní obraz 6(c) odpovídá obrazu konvenčního optického mikroskopu a lze jej vypočítat jako modulo  $|U_O + U_R^*(i, j)|$ . Nenavázaný fázový obraz 6(d) odpovídá změně optické dráhy předmětové vlny vzhledem k referenční a lze jej spočítat jako argument  $[U_O U_R^*(i, j)]$ . Pro získání kvantitativního fázového kontrastu je nutno fázový obraz navázat a vyrovnat jeho pozadí [27].



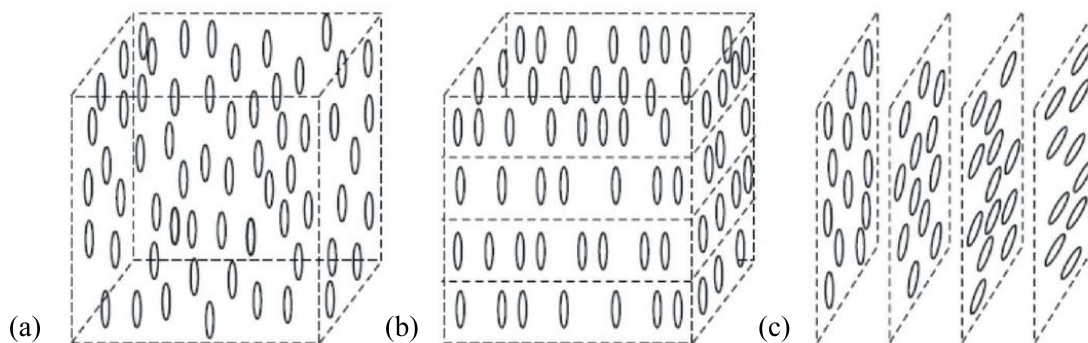
Obrázek 6: Zpracování obrazu: (a) hologram, (b) spektrum prostorových frekvencí s výřezem spektra kolem nosné frekvence  $f_c$ , (c) amplitudový obraz, (d) fázový obraz, (e) kvantitativní fázový obraz. Převzato a přeloženo z [23].

## 2 Digitální optické prvky

Tak jako v jiných vědních disciplínách, i v moderní optice se zejména v posledních desetiletích projevují trendy propojení experimentu s výpočetní technikou. Jedním z konkrétních projevů těchto trendů je například realizace principů digitální optiky pomocí metod prostorové modulace světla. K tomu se využívají tzv. optické modulátory, což jsou moderní optoelektronická zařízení, která jsou schopná měnit amplitudu a (nebo) fázi vlnění. Na rozdíl od klasických optických prvků poskytují mnohem větší variabilitu. Pro aktivní chápání těchto zařízení a jejich používání je nutné se seznámit s jejich principem.

### 2.1 Prostorový modulátor světla

Prostorový modulátor světla (SLM, z anglického Spatial Light Modulator) je jedním z příkladů optických modulátorů. Využívá elektrooptického jevu kapalných krystalů, ze kterých je tvořena jeho aktivní plocha. Kapalně krystaly jsou organické látky na rozhraní mezi kapalnými a pevnými látkami. Projevují chování kapalin, ale jejich molekuly jsou pravidelně uspořádány podobně jako v krystalických látkách. Vnitřní uspořádání molekul se rozlišuje jako nematické, smektické a cholesterické. Osy podlouhlých krystalů v nematickém uspořádání jsou navzájem rovnoběžné, ale nejsou uspořádány ve vrstvách, viz obrázek 7(a). Molekuly jedné vrstvy jsou vtěsnány mezi molekuly další vrstvy. Smektické kapalně krystaly, obrázek 7(b), jsou svisle uspořádány ve vodorovných vrstvách. Cholesterické uspořádání molekul je uspořádání ve svislých vrstvách, v nichž jsou osy molekul navzájem rovnoběžné, ale v každé svislé vrstvě je směr os molekul oproti osám molekul v předchozí vrstvě pootočen, obrázek 7(c).



Obrázek 7: Struktura kapalných krystalů: (a) nematické krystaly, (b) smektické krystaly, (c) cholesterické krystaly. Převzato z [28].

SLM je tvořeno vzájemně oddělenými pixely tvořících pravidelnou strukturu. Při výběru SLM jsou důležitými parametry velikost a počet pixelů v závislosti na jeho využití. V těchto buňkách jsou umístěny tekuté krystaly ve stočeném nematickém uspořádání, které je indentické s uspořádáním cholesterickým. Toto stočení není přirozené, ale uměle vyvolané prostředím, například vhodným leštěním ploch mezi které jsou krystaly umístěny.

Princip modulace poté spočívá v přívodu elektrického napětí na každý pixel SLM pomocí elektrod. Tím je ovládána stáčivost molekul a změna jejich orientace. Při průchodu SLM vlnou pak dochází ke změně optické dráhy. Vhodným definováním naklopení molekul daných pixelů můžeme určovat funkci propustnosti a tak cíleně měnit procházející vlnu.

Prostorový modulátor světla nachází uplatnění v širokém spektru moderních i klasických optických metod. Může být umístěn do různých částí experimentálních sestav v optické mikroskopii. Například v osvětlovací soustavě umožňuje měnit nasvětlení vzorku. Využívá se také jako fourierovský filtr s možností fázové nebo amplitudové modulace prostorového spektra. Tato dvě uplatnění lze výhodně kombinovat. Mimo jiné dokáže nahradit činnost řady klasických optických prvků (čoček, hranolů, difrakčních mřížek), atd.

## 2.2 Digitální mikrozrcátkový systém

Digitální mikrozrcátkové systémy (DMD, z anglického Digital Micromirror Device) patří do skupiny mikroelektromechanických systémů (MEMS), mezi které patří i dynamické difrakční mřížky a piezoelektrická deformovaná zrcadla. Technologii DMD objevili Larry Hornbeck a William Nelson v roce 1987 ve společnosti Texas Instruments Inc [29].

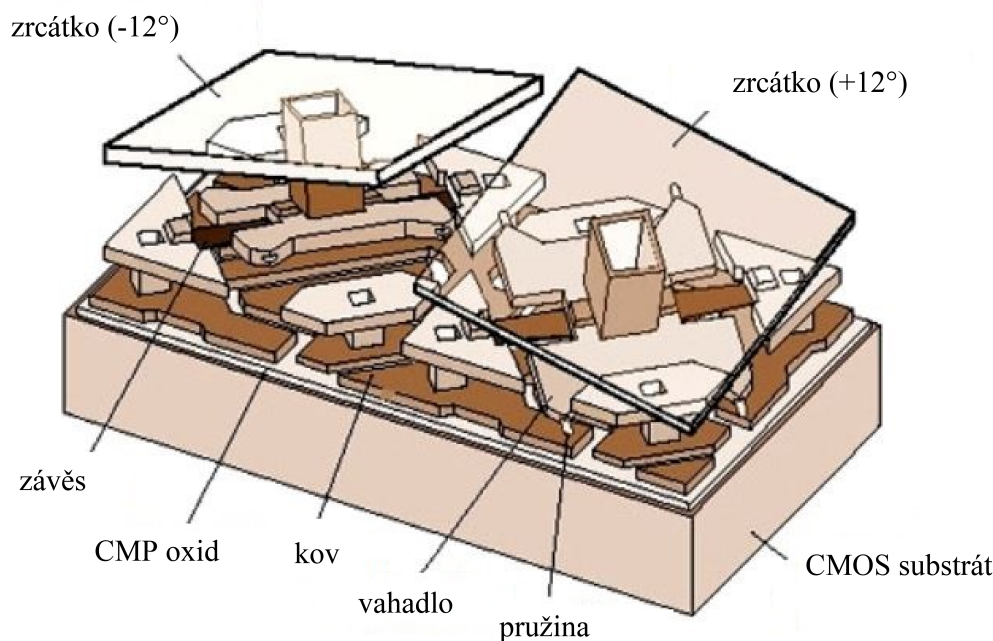
DMD čip tvoří řádově miliony mikroskopických pohyblivých zrcátek. Jsou umístěna těsně vedle sebe a vytvářejí obdélníkové pole. Díky vysoké odrazivosti zrcátek se DMD čip využívá pro modulaci světla podobně jako SLM. Počet zrcátek odpovídá počtu obrazových bodů (pixelů) daného formátu obrazu, který je promítán. Jednotlivá zrcátka jsou řízena elektrickými impulzy a je proto možné bistabilní ovládání zrcátek v intervalu  $\pm 12^\circ$ , tedy buď  $-12^\circ$  (zapnuto) nebo  $+12^\circ$  (vypnuto) podél osy, která je dána úhlopříčkou zrcátka. Tímto způsobem mění zrcátka směr chodu světla, které na ně dopadá. Pokud je zrcátko ve stavu zapnuto, odráží světlo do dalších částí optického přístroje, je-li ve stavu vypnuto, je světlo odchýleno mimo optický systém a na tvorbě obrazu se nepodílí. Pixel reprezentovaný tímto zrcátkem se v tomto případě zobrazí jako černý. DMD čip je schopen generovat i odstíny šedé barvy. Při zobrazování videa ve formě digitálního signálu vykoná každé zrcátko až několik tisíc pohybů za sekundu. Poměr dob, kdy je zrcátko ve stavu zapnuto a kdy je ve stavu vypnuto, určuje odstín šedivé barvy.

Celý DMD čip je umístěn na CMOS substrátu. Jednotlivá zrcadla jsou vyrobena mikrolitograficky z hliníku a mají rozměr v řádu mikrometrů. Každé z nich je připevněno na vahadlo, které je zavěšeno na dvou torzních závěsech. Závěs je pevně uchycen na obou koncích a jeho střední část se otáčí, jak je znázorněno na obrázku 8. Vzhledem k malým rozměrům zrcátek a jejich závěsů není závěs nijak výrazně namáhán.

Poloha každého ze zrcátek je kontrolována pomocí dvou párů elektrod, které vytváří elektrostatické pole. Na každém konci závěsu je umístěna jedna elektroda z každé dvojice. Jedna dvojice elektrod kontroluje polohu zrcátka na vahadle, druhá dvojice elektrod má za úkol kontrolu správného natočení zrcátka. Na oba páry elektrod je většinu doby přiváděn stejný náboj. Proto je místo natáčení zrcátka zpět do rovnovážné polohy zrcátko drženo v současné poloze, dokud se náboj nezmění. Pod každým zrcátkem je umístěna také tzv. paměťová buňka, která je spojena s elektrodami ovládajícími polohu zrcátek. Aby se zrcátko mohlo začít pohybovat, musí z této buňky přijít příslušný

signál. Jakmile jsou do dané buňky vloženy informace o pohybu, je přivedeno na elektrody napětí. V důsledku toho mezi zrcátkem a elektrodami začne působit elektrostatická síla a zrcátko se začne pohybovat. Další požadovaný pohyb zrcátka je vyvolán přivedením dalšího napěťového impulzu z paměťové buňky. Tyto napěťové impulzy ovládající pohyb zrcátek jsou generovány na základě signálu, který je do elektroniky systému přiváděn DLP driverem [30, 31].

Napětí, které se přivádí na elektrody a řídí se jimi pohyb zrcátek, nabývá pouze určitých hodnot. Tím je snížen počet úrovní napětí, které jsou nutné pro adresaci jednotlivých pixelů. Pixely tak mohou být přímo řízeny z paměťové buňky. Další výhodou je skutečnost, že tímto způsobem je možno měnit napětí pro všechna zrcátka na celém čipu a všechna zrcátka se tedy mohou otočit ve stejný okamžik. Přesné časování je velkou výhodou pro využití technologie DMD například při promítání dynamických masek.



Obrázek 8: Struktura DMD čipu. Převzato a upraveno z [30].

Vzhledem k výhodnému umístění veškeré řídicí elektroniky pod zrcátka mohou být zrcátka umístěná těsně vedle sebe. Tak není z aktivní zobrazovací plochy nic ubráno a v promítané masce nevzniká tmavá mřížka. Vlivem velké odrazivosti zrcátek je kontrast promítaného obrazu i světelný výkon celé soustavy dán jen intenzitou světla, které na zrcátka dopadá ze světelného zdroje [30].

Přepínání zrcadel s vysokou rychlostí vedlo ke zlepšení výkonu projektorů, pro které byly DMD čipy prvoplánově určeny. Po této velmi úspěšné aplikaci, díky svým vlastnostem a komerční dostupnosti technologie, se vývojářům objevily desítky nových možností. Zároveň s možností práce s vlněním mimo viditelné spektrum, se využívá ve volumetrickém zobrazování, litografii, lékařských zobrazovacích přístrojích a v neposlední řadě i v mikroskopii.





### 3 Motivace a cíle práce

Současné podoby Koherencí řízeného holografického mikroskopu využívají pouze optické prvky, jako je difrakční mřížka, zrcadlo a zobrazovací optika. S trendem využívání výpočetní techniky a digitálního zobrazování je možné využití digitální optiky také v mikroskopii. Digitální prvek, tzv. DMD čip popsáný v oddílu 2.2, umístěný v osvětlovací části CCHM, umožňuje širší využití mikroskopu. Mezi ně patří například využití pro plánované experimenty s různými módy osvětlení pro tomografické aplikace [32], nebo pro úpravu zobrazovacích možností mikroskopu jakou je změna velikosti apertury osvětlení, atd. K umožnění těchto experimentů je nutné:

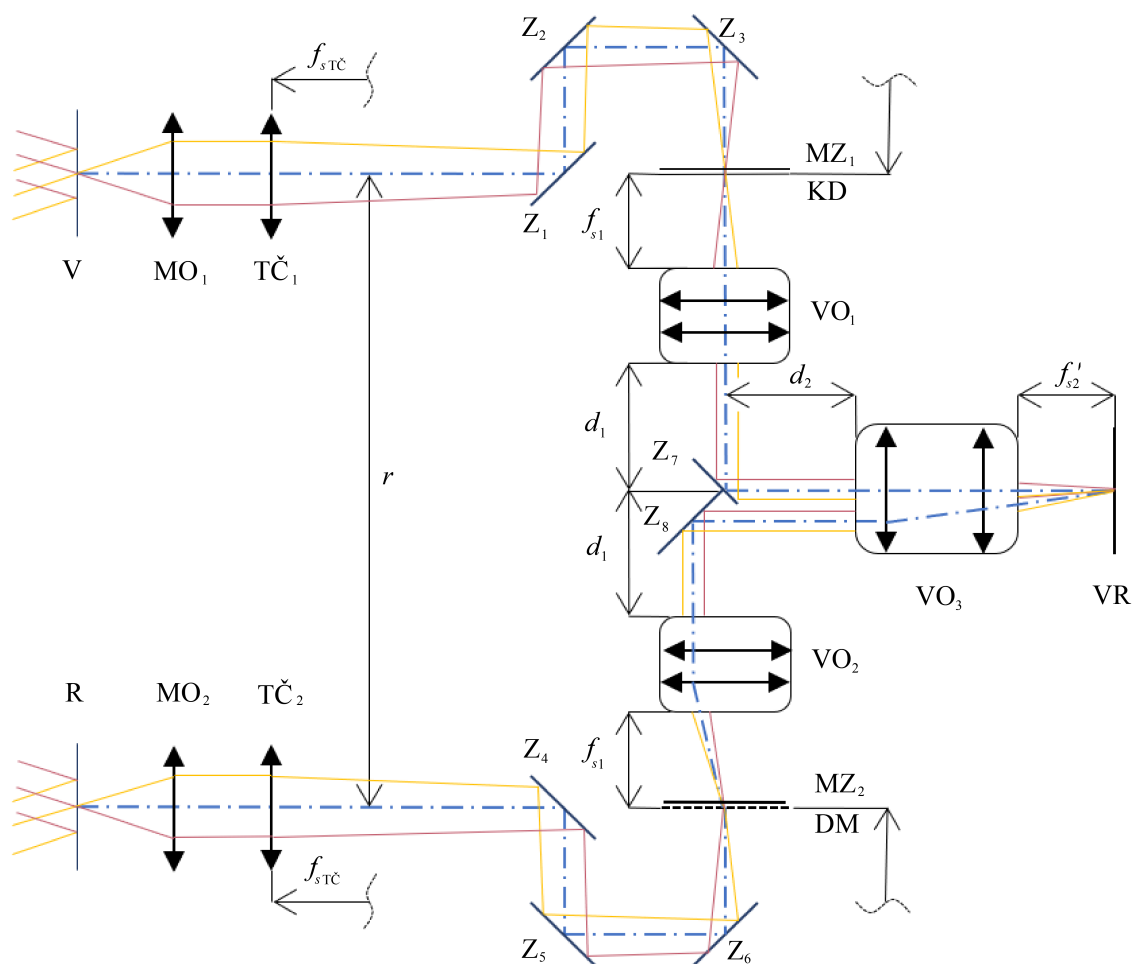
1. Navrhnout podobu optické cesty CCHM mikroskopu.
2. Zvolit umístění DMD čipu v optické soustavě CCHM mikroskopu tak, aby bylo možno upravovat jeho zobrazovací vlastnosti.
3. Zvolit a proměřit výstupní objektivy a experimentálně ověřit zobrazovací část mikroskopu.
4. Vytvořit kompletní optický model mikroskopu.
5. Ověřit trasováním zobrazovací vlastnosti CCHM mikroskopu s digitálním optickým prvkem.



## 4 Zobrazení část CCHM

Před samotným návrhem bylo nutné vybrat základní optické prvky, které známe ze současné verze CCHM. Byl použit mikroskopový objektiv MO s parfokální vzdáleností 60 mm a tubusová čočka TČ se sečnou ohniskovou vzdáleností  $f_{sTČ} = 152,6$  mm. Dále byla vybrána difrakční mřížka s frekvencí vrypů  $f_{DM} = 150$  čar na milimetr. Pro CCHM jsem zvolila fotografický objektiv s pevnou ohniskovou vzdáleností 85 mm jako výstupní objektiv VO<sub>1,2</sub> a pro výstupní objektiv VO<sub>3</sub> zoomovací objektiv s ohniskovou vzdáleností od 70 do 200 mm.

Všechny zvolené prvky byly použity pro návrh optického systému, jehož schéma je na obrázku 9. Jedná se o zobrazovací část off-axis holografického uspořádání, které je založeno na interferenci nultého a prvního difrakčního řádu, jako u současné podoby CCHM.



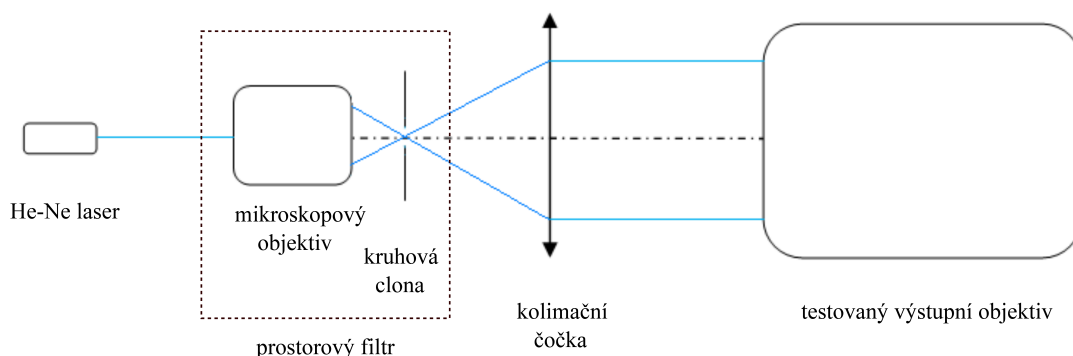
Obrázek 9: Schéma výstupní soustavy CCHM. Mikroskopové objektivy MO, tubusové čočky TČ, zrcadla Z, difrakční mřížka DM, kompenzační destička KD, výstupní objektivy VO, roviny meziobrazů MZ, výstupní rovina VR, sečné ohniskové vzdálenosti  $f_s$ , vzdálenosti výstupních objektivů  $d$  od roviny separace difrakčních řádů.

Mikroskopové objektivy MO s tubusovými čočkami TČ jsou umístěny za rovinou vzorku V, resp. referenční rovinou R, tak, že zobrazují vzorek V, resp. referenční rovinu R, do rovin meziobrazů MZ. Roviny meziobrazů MZ jsou zobrazeny do výstupní roviny VR pomocí soustavy výstupních objektivů VO. Hologram je snímán CMOS kamerou, která je umístěna v těsné blízkosti výstupní roviny VR. V rovinách meziobrazů MZ je zároveň umístěna difrakční mřížka DM a kompenzační destička KD. Tím je ve výstupní rovině VR zaručen vznik interferenčního obrazce se shodnou prostorovou frekvencí proužků (nebo-li nosnou frekvencí  $f_c$ ) pro všechny vlnové délky použitého světla a pro všechny body plošného zdroje [21]. Uspořádání zvolených optických prvků je osově symetrické. Paprsky, které společně interferují, a které musí vycházet z jednoho bodu zdroje Zd, neprochází zobrazovací částí symetricky. Na obrázku 9 jsou odlišeny různými barvami.

Nároky na přesnost parametrů výstupních objektivů VO využívaných v CCHM jsou velmi vysoké. Vybrala jsem fotografické objektivy, které jsou primárně určeny k fotografování, tudíž výrobce neuvádí všechny důležité parametry, tedy pro mě důležité polohy ohnisek ( $f_{s1}, f'_{s2}$ ). Proto bylo potřeba dané objektivy proměřit. To mě motivovalo k tvorbě testovací jednotky, která obsahuje laser s prostorovým filtrem a kolimační čočkou. Ostatní délkové parametry ( $d_1, d_2, r$ ) jsou předmětem experimentálního měření popsaného v části 4.3 a výsledkem 3D modelu popsaného v části 4.4.

## 4.1 Testovací jednotka

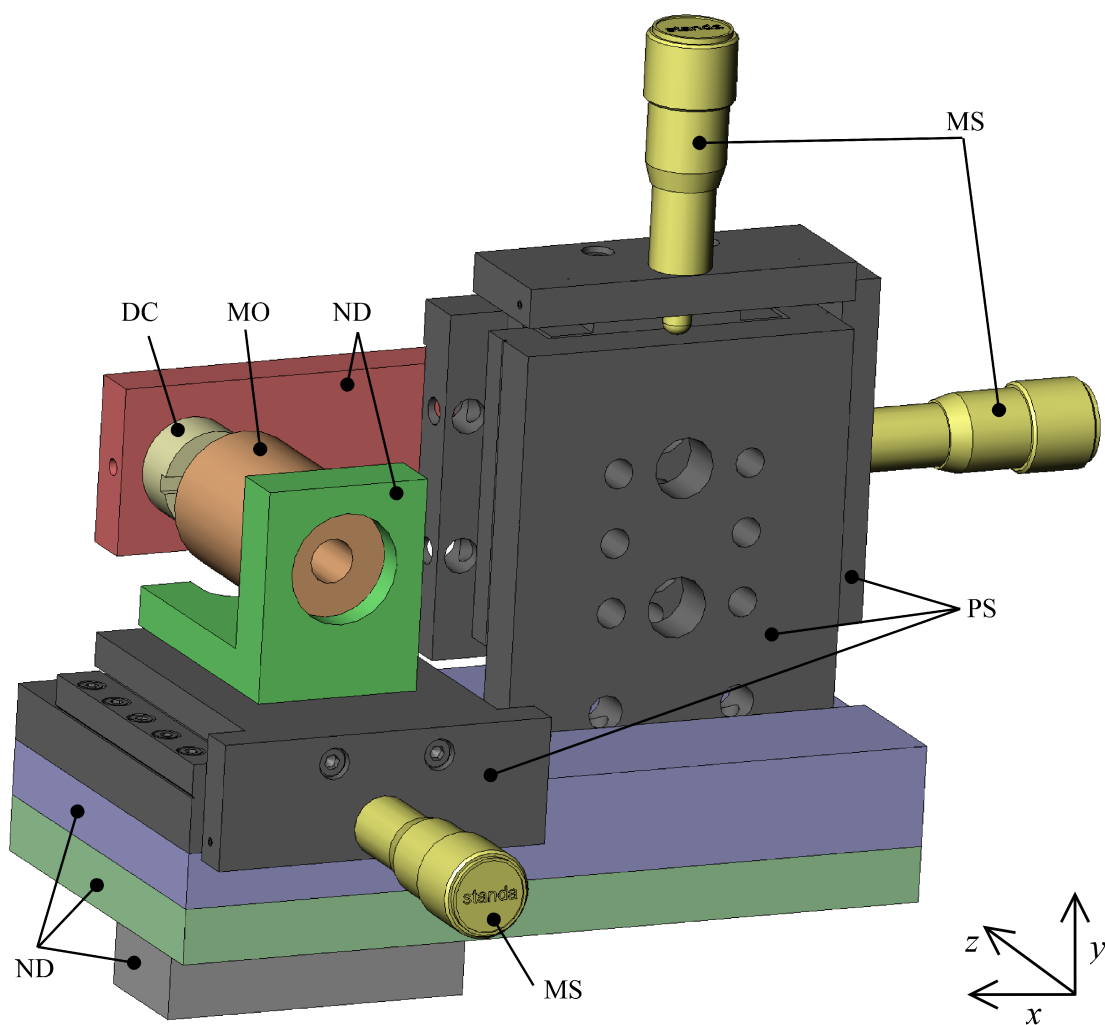
Schéma popisované testovací jednotky můžeme vidět na obrázku 10. Helium neonový laser vytváří koherentní svazek světla o vlnové délce 632,8 nm. Na mikroskopový objektiv dopadá téměř rovinná vlna. Jako součást prostorového filtru byl vybrán planární mikroskopový objektiv se zvětšením 40x, numerickou aperturou 0,66 a s konečnou tubusovou délkou. Tento objektiv fokusuje dopadající svazek světla na kruhovou clonu. Po umístění kolimační čočky, jejíž ohnisko je v rovině kruhové clony, dostáváme na výstupu testovací jednotky rovinnou vlnu. Rovinná vlna nám slouží k testování výstupních objektivů VO<sub>1,2,3</sub> použitých v CCHM.



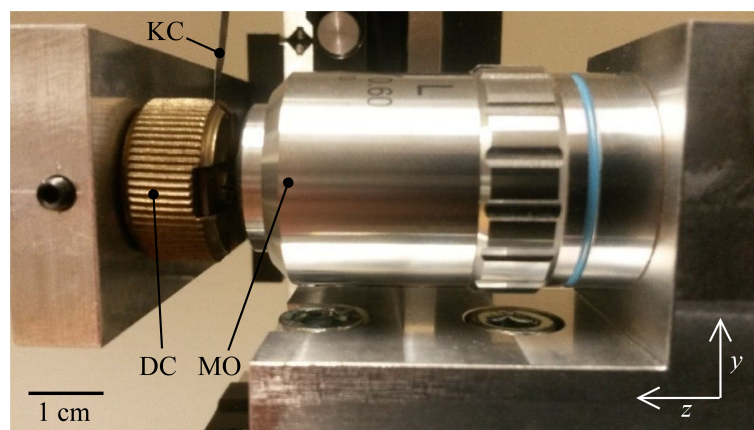
Obrázek 10: Schéma testovací jednotky.

Samotná velikost kruhové clony a její umístění hrají pro funkci testovací sestavy velmi důležitou úlohu. Pro stanovení velikosti jejího průměru jsem využila optický program Zemax. Nasimulovala jsem použitý objektiv jako paraxiální čočku s danými parametry (40x/0,66). Na tento objektiv jsem nechala dopadat ideální rovinnou vlnu o vlnové délce 555 nm, protože se jedná o vlnovou délku odpovídající středu spektra, kterou CCHM může využít. Velikost Airyho disku, která vyšla z této simulace, byla přibližně 1  $\mu\text{m}$ . Při realizaci jsem použila již existující plíšek s mikrometrovým otvorem.

Kruhová clona musí být umístěna do ohniska mikroskopového objektivu. Aby toho bylo dosaženo za každých podmínek, bylo nutné clonu i objektiv umístit na stolky s mikrometrickými posuvy 7T125X-10 od firmy Standa [33], které umožňují doladit jejich vzájemné polohy. Model zařízení můžeme vidět na obrázku 11 a fotku vzájemné polohy kruhové clony a objektivu na obrázku 12. Výkresová dokumentace je přílohou této práce. Dva posuvné stolky příčně posunují kruhovou clonu ve směru os  $x, y$ , a třetí posuvný stolek umožňuje ostření mikroskopového objektivu ve směru osy  $z$ . Posuvné stolky jsou vybaveny mikrometrickými šrouby, jejichž nonius je rozdělen po 0,05 mm. Rozsah posuvu stolku je 10 mm.



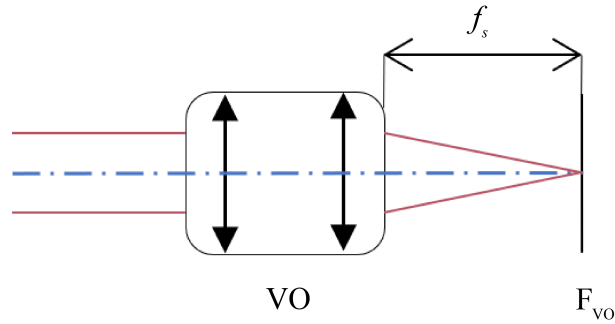
Obrázek 11: Model prostorového filtru. Držák kruhové clony DC, mikroskopový objektiv MO, nosné desky ND, mikrometrické šrouby MS, posuvné stolky PS.



Obrázek 12: Fotka sestavy prostorového filtru na posuvných stolicích. Plíšek s kruhovou clonou KC, držák kruhové clony DC, mikroskopový objektiv MO.

## 4.2 Výsledky experimentálního měření výstupních objektivů

Jak již bylo zmíněno výše, testovací jednotka byla použita pro měření sečných ohniskových vzdáleností  $f_{s1}, f'_{s1}$  a  $f_{s2}, f'_{s2}$  zvolených výstupních objektivů  $VO_{1,2}$  a  $VO_3$ . Schéma testovací jednotky je uvedeno na obrázku 10 a je popsáno v části 4.1. Z testovací jednotky vychází kolimovaný svazek, který je fokusován měřenými výstupními objektivy VO. Sečné ohniskové vzdálenosti byly měřeny posuvným měřítkem, a to od dosedové plochy, resp. hrany, výstupních objektivů VO k jeho ohniskové rovině, v závislosti na jeho orientaci. Objektivy byly měřeny z obou stran, nicméně objektiv  $VO_3$  má polohu jednoho ohniska uvnitř svého těla. Proto nebyla naměřena sečná ohnisková vzdálenost  $f_{s2}$ . Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.



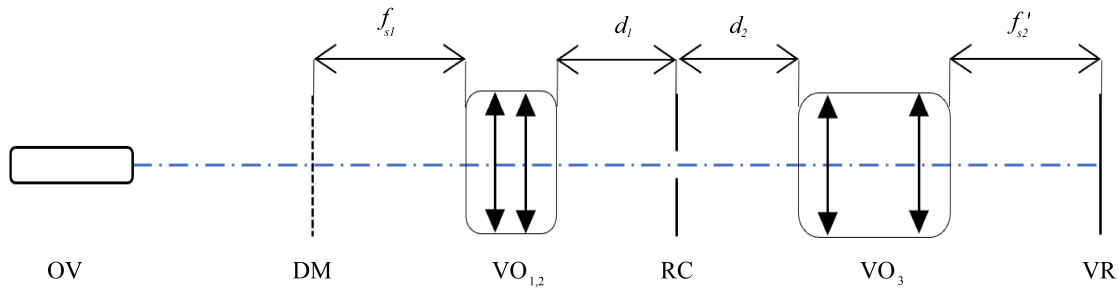
Obrázek 13: Schéma měření výstupních objektivů. Výstupní objektiv VO, ohnisková rovina výstupního objektivu  $F_{VO}$ , sečná ohnisková vzdálenost výstupního objektivu  $f_s$ .

Tabulka 1: Sečné ohniskové vzdálenosti objektivů.

Výstupní objektiv	Parametr	Hodnota
$VO_{1,2}$	$f_{s1}$	$38,7 \pm 0,5$ mm
	$f'_{s1}$	$14,5 \pm 0,3$ mm
$VO_3$	$f'_{s2}$	$39,5 \pm 0,5$ mm

### 4.3 Sestavení výstupní optické soustavy CCHM

Zjištěné parametry jsem použila pro experimentální ověření sestavení výstupní objektivů  $VO_{1,2}$  a  $VO_3$ , viz. obrázek 14. Jako zdroj světla bylo zvolen optický vlnovod o průměru 4 mm s polychromatickým zdrojem světla. Použila jsem difrakční mřížku DM s frekvencí vrypů 150 čar/mm, která rozkládá světlo do jednotlivých difrakčních řádů. Tato difrakční mřížka byla umístěna v přední sečné ohniskové rovině  $f_{s1}$  výstupního objektivu  $VO_{1,2}$ . Nalezla jsem rovinu separace jednotlivých difrakčních řádů, kde jsou řády od sebe odděleny a tudíž se nepřekrývají. Jelikož je potřeba v objektové větvi návrhu pouze první difrakční řád, vyrobila jsem clonku. Tato clonka leží právě v rovině separace difrakčních řádů, nechává procházet potřebný první řád a odclouňuje ostatní. Za ní se na optické lavici nachází výstupní objektiv  $VO_3$ , který společně s výstupním objektivem  $VO_{1,2}$  zobrazuje difrakční mřížku DM na detektor D. Určila jsem přesné vzdálenosti  $d_1$  a  $d_2$  výstupních objektivů  $VO_{1,2}$  a  $VO_3$  od roviny separace difrakčních řádů s kruhovou clonou RC. Tyto vzdálenosti jsou uvedeny v tabulce 2.



Obrázek 14: Schéma sestavení výstupní optické soustavy CCHM. Optické vlákno OV, difrakční mřížka DM, výstupní objektivy VO, rovina separace difrakčních řádů se clonou RC, výstupní rovina VR, sečné ohniskové vzdálenosti výstupních objektivů  $f_s$ , měřené vzdálenosti  $d$ .

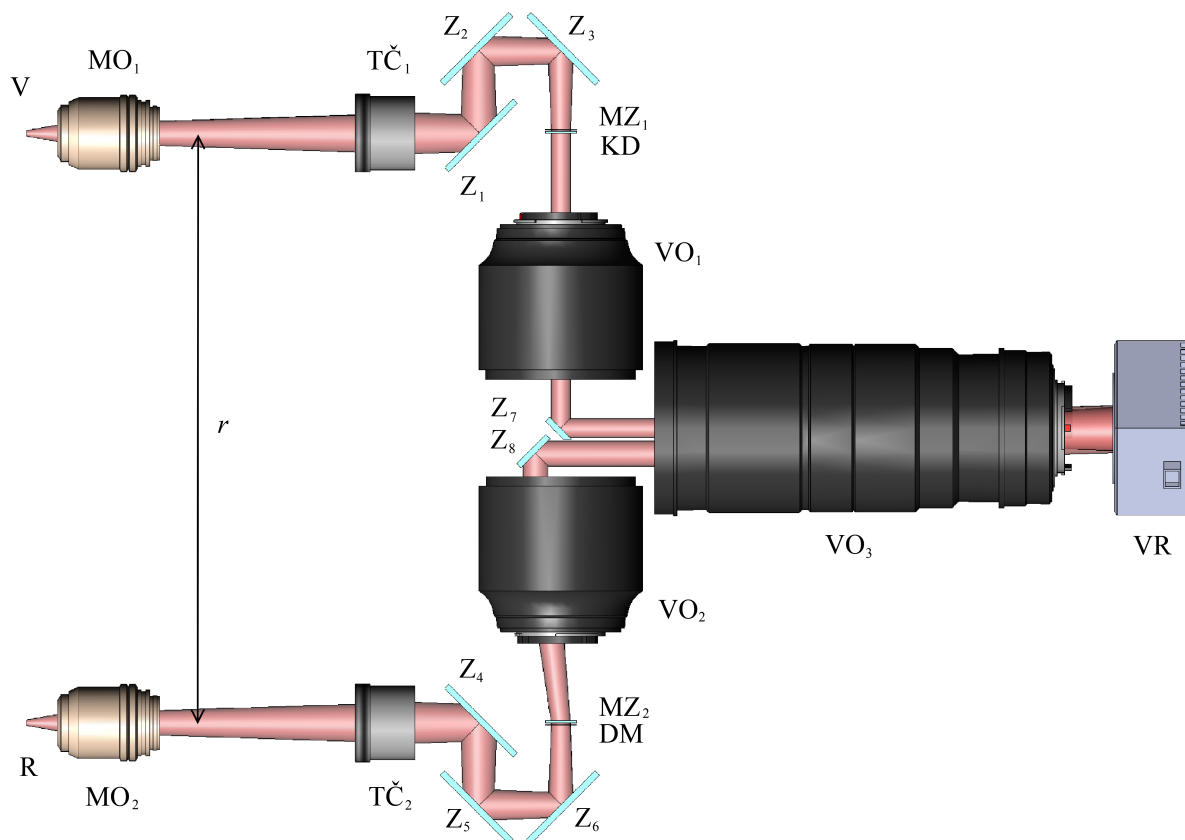
Tabulka 2: Zjištěné vzdálenosti vyznačené v obrázku 14.

Parametr	Hodnota
$d_1$	$47,9 \pm 0,5$ mm
$d_2$	$45,6 \pm 0,5$ mm



## 4.4 Model výstupní soustavy

Po zjištěných vzdálenostech uvedených v předchozích částech jsem vytvořila 3D model výstupní soustavy v programu SolidWorks, viz obrázek 15. Díky přesnému umístění optických prvků jsem stanovila rozteč optických os obou větví CCHM  $r = 293,2$  mm. Tuto vzdálenost bylo nutno znát pro návrh osvětlovací části mikroskopu.



Obrázek 15: Model výstupní sestavy. Mikroskopové objektivy  $MO$ , tubusové čočky  $TČ$ , zrcadla  $Z$ , difrakční mřížka  $DM$ , kompenzační destička  $KD$ , výstupní objektivy  $VO$ , roviny meziobrazů  $MZ$ , výstupní rovina  $VR$  s CMOS kamerou, rozteč os větví  $r$ .



## 5 Osvětlovací část CCHM

Pro možnost říditelného osvětlení roviny vzorku jsem vytvořila několik návrhů s využitím DMD čipu popsaného v části 2.2. Podrobná data a specifikace o používaném DMD čipu a jeho ovladači (DLP9000X DMD a DLPC910 Digital Controller) jsou uvedeny na internetových stránkách společnosti Texas Instruments Inc [29]. Většina informací o produktu byla získána z produktových dokumentací. Daný DMD čip byl zvolen z důvodu jemného čipu s rozlišením pixelů  $2560 \times 1600$ , což odpovídá velikosti pole  $19 \times 12,16$  mm. Z toho plyne velikost oprického průměru čipu  $d_{\text{DMD}} = 12,16$  mm. Každé zrcátko o velikosti  $7,6 \mu\text{m}$  odpovídá jednomu pixelu. Frekvence překreslování obrazu je 9500 Hz s datovou propustností více než 40 Gbps. DMD je optimalizováno pro vlnové délky 400 až 700 nm. Zástavbové rozměry DMD čipu jsou  $42,2 \times 42,2 \times 7$  mm. Tyto údaje jsou dále potřebné pro optické i mechanické uspořádání mikroskopu.

Všechny návrhy by se měly řídit principem Köhlerova osvětlení [34] a budou popsány v následující části diplomové práce. Základní prvky všech návrhů jsou stejné, viz obrázek 16, 18, 22, a požadavky pro osvětlovací část mikroskopu jsou následující: Zdroj světla  $Z_d$  je zobrazován kolektorovými čočkami  $K_{ol}$  na DMD čipy, které odchyľují světlo, a které jsou díky pomocným čočkám  $\check{C}$  zobrazovány do zadních ohniskových rovin kondenzorů  $F_{\text{Kon}}$ . Kondenzory  $K_{on}$  pak rovnoběžnými svazky osvětlují rovinu vzorku  $V$ , resp. referenční rovinu  $R$ .

Pro začátek byl nutný výběr zejména zdroje a kondenzorů. Jako zdroj světla  $Z_d$  jsem zvolila optické vlákno o průměru  $d_{Z_d} = 3$  mm a malým vyzařovacím úhlem  $50^\circ$ , které přivádí světlo z halogenové žárovky, jejíž záření je filtrováno interferenčním filtrem 650 nm s pološířkou 10 nm.

Současná verze CCHM využívá kondenzory s ohniskem 45 mm a průměrem vstupní pupily 28 mm, která je účinně využívána pouze z 57 % [35], protože vnáší do zobrazení dosti vad. Proto je jednou z možností použít místo kondenzorů planární mikroskopový objektiv s velkou pracovní vzdáleností, pro dostatečné místo pro vzorek, a s velkou numerickou aperturou. Proto jsem jako kondenzory  $K_{on}$  zvolila mikroskopové objektivy #46-146 od firmy Mitutoyo [36] s  $f_{K_{on}} = 4$  mm, se zvětšením 50x,  $NA = 0,55$  a pracovní vzdáleností 13 mm. Průměr vstupní pupily kondenzoru volím raději větší  $d_{K_{on}} = 16$  mm, protože by mikroskop mohl být použit i s jinou optikou místo kondenzorů.

Pro zvolení dalších optických prvků (kolektorů  $K_{ol}$  a pomocných čoček  $\check{C}$ ) bylo nutné určit si teoretické zvětšení. Jako  $M_1$  si označíme zvětšení při zobrazení roviny zdroje  $Z_d$  na DMD čip a platí pro něj vztah:

$$M_1 = \frac{d_{\text{DMD}}}{d_{Z_d}} = \frac{f_{K_{ol2,3}}}{f_{K_{ol1}}}, \quad (4)$$

kde  $f_{K_{ol}}$  jsou ohniskové vzdálenosti potřebných kolektorů  $K_{ol}$ . Z výše uvedených hodnot získáváme  $M_1 \cong 4,05$ . Stejným postupem bylo vypočítáno zvětšení  $M_2$  pro pomocné čočky  $\check{C}$ , které zobrazují DMD čip do zadních ohniskových rovin kondenzorů  $F_{\text{Kon}}$ :

$$M_2 = \frac{d_{\text{DMD}}}{d_{K_{on}}} = \frac{f_{\check{C}_{2,4}}}{f_{\check{C}_{1,3}}}. \quad (5)$$

Z těchto hodnot vyplývá velikost zvětšení  $M_2 \cong 0,76$ .

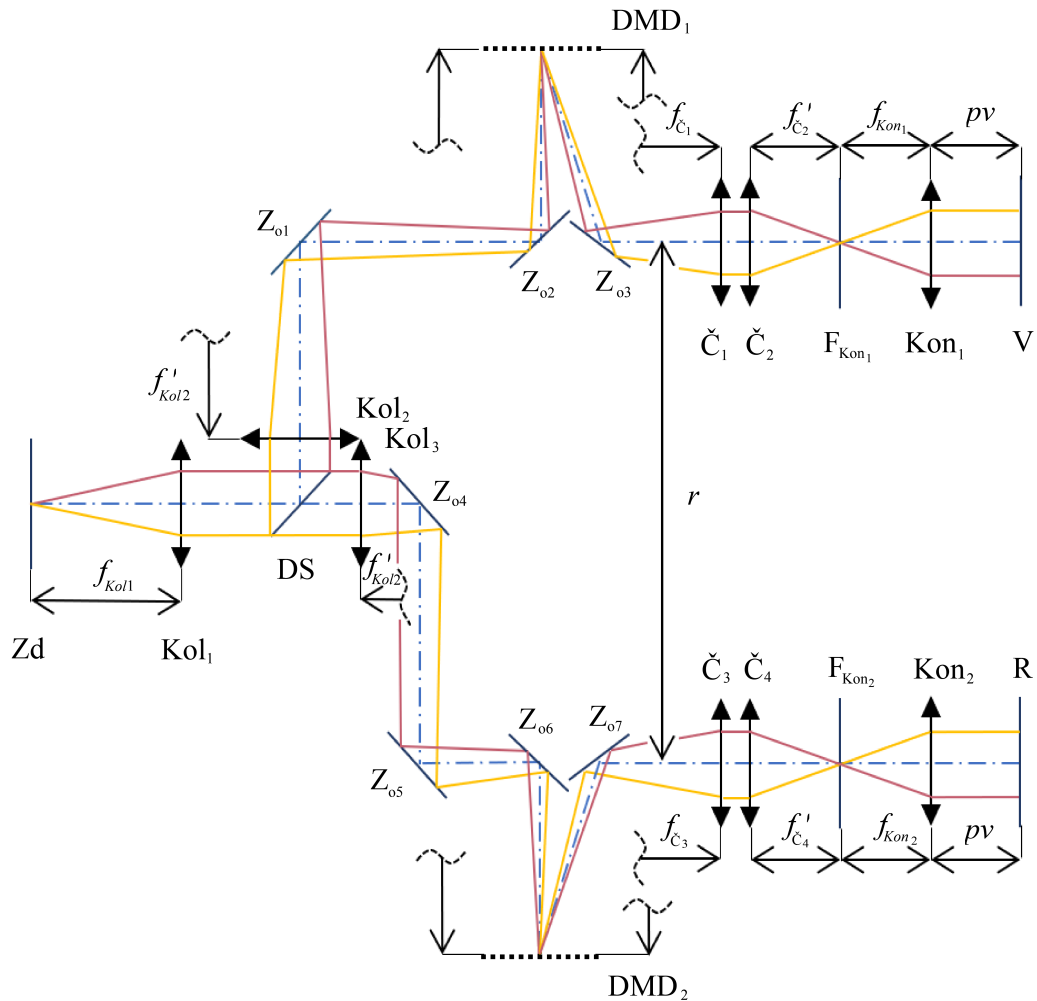
Nyní je možné zvolit kolektory  $Kol_1$ ,  $Kol_{2,3}$  a pomocné čočky  $\check{C}_{1,3}$  a  $\check{C}_{3,4}$ . Z komerčně dostupných čoček je těžké vybrat čočky s takovým poměrem ohniskových vzdáleností, aby odpovídaly daným zvětšením podle rovnic 4 a 5, protože se komerčně nevyrábí s tak jemným rozestupem ohnisek. Proto se budu snažit zvětšení  $M_1$  a  $M_2$  co nejvíce přiblížit. Zároveň musím brát zřetel na podmínku rozteče os větví  $r = 293,2$  mm, která musí být splněna.

Jako kolektor  $Kol_1$  a  $Kol_{2,3}$  byly zvoleny achromatické dublety. Na místo  $Kol_1$  byl vybrán achromatický dublet od firmy Edmund optics s produktovým číslem #47-640 [37], a pro  $Kol_{2,3}$  achromatický dublet AC254-400-A-ML od firmy ThorLabs [38]. Zvolením ohniskových délek pro první kolektor  $Kol_1$   $f_{Kol_1} = 85$  mm a pro druhý kolektor  $Kol_{2,3}$   $f_{Kol_{2,3}} = 400$  mm bude dosaženo zvětšení  $M_1 = 4,7$  a poskytnou požadovanou rozteč os větví  $r$ . Oba kolektory mají optický průměr  $d_{Kol} = 25$  mm.

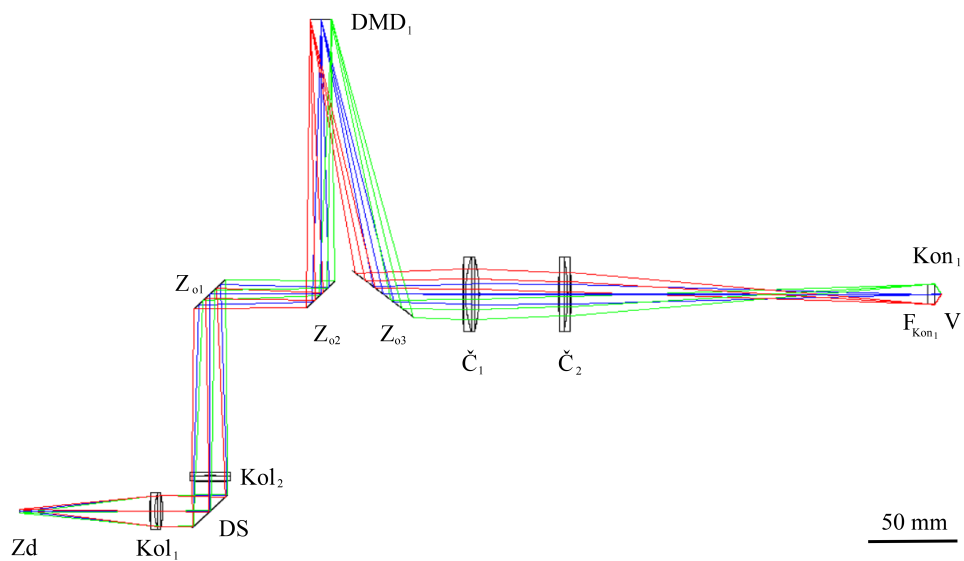
Návrhy byly simulovány a analyzovány v programu Zemax. Již při prvním návrhu, viz obrázek 17, si můžeme všimnout, že v prostorech mezi zrcadly  $Z_{o3,o7}$  a DMD čipem  $DMD_{1,2}$  není dostatek místa pro umístění pomocných čoček  $\check{C}$  pro zobrazení DMD čipu na kondenzory. Jakékoliv prvky zde umístěné by bránily chodu paprsků dopadajících na DMD čipy  $DMD_{1,2}$ . Proto musí být ohnisko  $f_{\check{C}_{1,3}}$  větší, než tato vzdálenost. Na místo pomocných čoček  $\check{C}$  jsem tedy zvolila opět dva achromatické dublety. Pro  $\check{C}_{1,3}$  dublet AC508-200-A-ML a pro  $\check{C}_{2,4}$  dublet AC508-300-A-ML, oba od firmy ThorLabs [38], a to o optickém průměru  $d_{\check{C}} = 50$  mm a ohniskových vzdálenostech  $f_{\check{C}_{1,3}} = 200$  mm a  $f_{\check{C}_{2,4}} = 300$  mm. Jejich společné zvětšení  $M_2 = 1,5$  je větší, než vypočítaná hodnota zvětšení  $M_2$ , nicméně jedná se o nejlepší řešení, kterého se mi podařilo dosáhnout.

## 5.1 První návrh

První možnost, která se mi nabízela, je zobrazena na obrázku 16. Pro návrh uvažujeme symetrické uspořádání větví. Jedná se o systém, kdy na DMD čipy dopadají svazky kolmo k normálové rovině DMD čipu. a poté jsou odchýleny o  $12^\circ$ . Byla provedena optická simulace v programu Zemax, viz obrázek 17, a bylo použito světlo o vlnové délce 650 nm. Výhoda popsaného návrhu spočívá v jednoduchém uložení DMD čipu, nicméně bylo zjištěno více nevýhod. Roviny DMD čipů nejsou vhodně zobrazeny do zadních ohniskových rovin kondenzorů  $F_{Kon}$ . Jsou vůči této rovině skloněny, a proto není splněna podmínka Köhlerova osvětlení. To by znamenalo horší možnosti řízeného osvětlení roviny vzorku  $V$  a referenční roviny  $R$ . Tyto nevýhody bylo nutno odstranit, a proto u prvního návrhu nebyla provedena bližší analýza. Optické parametry osvětlovací části objektové větve prvního návrhu jsou uvedeny v tabulce 3.



Obrázek 16: První návrh osvětlovací soustavy. Zdroj světla  $Zd$ , dělič světla  $DS$ , kolektory  $Kol$ , zrcadla  $Z$ , DMD čip  $DMD$ , pomocné čočky  $\check{C}$ , zadní ohniskové roviny kondenzorů  $F_{Kon}$ , kondenzory  $Kon$ , rovina vzorku  $V$ , referenční rovina  $R$ , ohniskové vzdálenosti optických prvků  $f$ , pracovní vzdálenosti kondenzorů  $pv$ , rozteč os větví  $r$ .



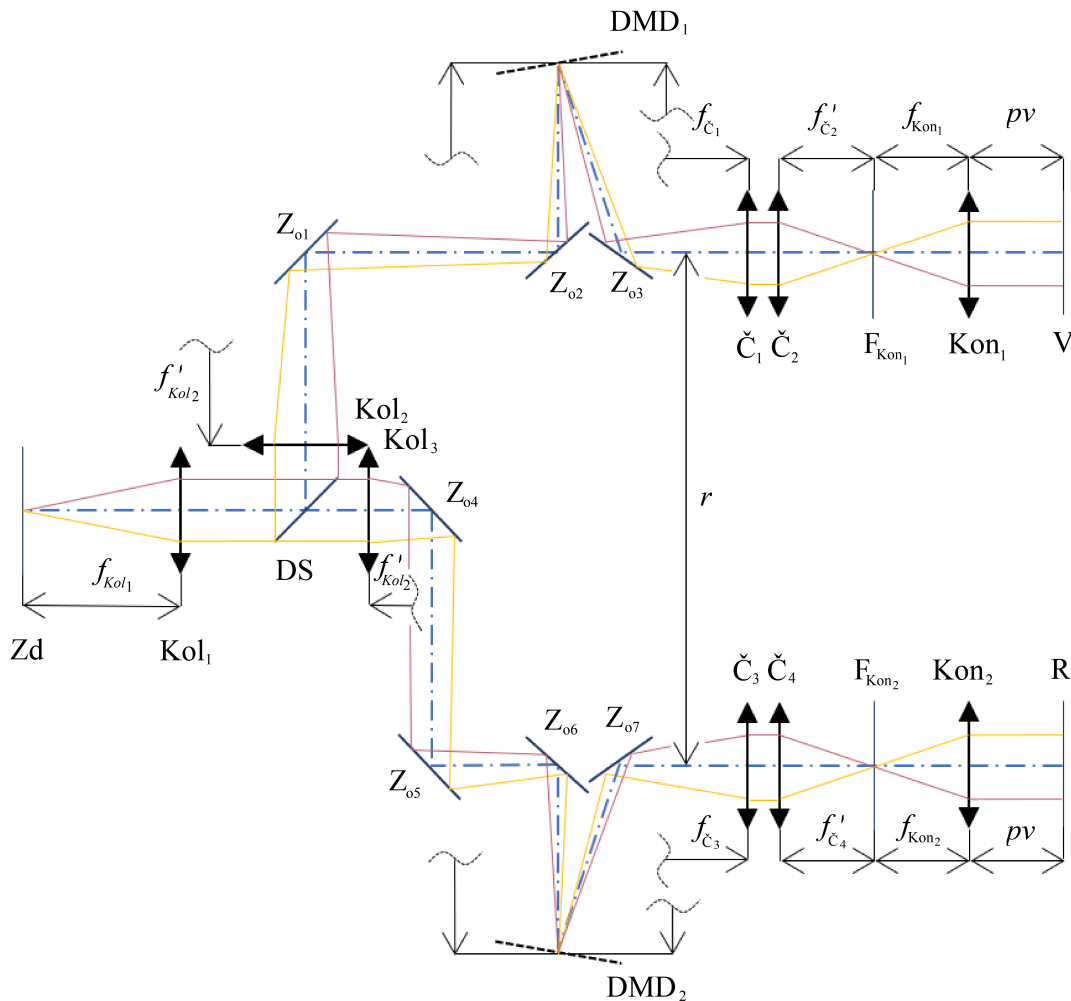
Obrázek 17: Simulace osvětlovací soustavy objektové větve prvního návrhu. Zdroj světla  $Z_d$ , dělič světla  $DS$ , kolektory  $Kol$ , zrcadla  $Z$ , DMD čip  $DMD$ , pomocné čočky  $\check{C}$ , zadní ohnisková rovina  $F_{Kon}$ , kondenzory  $Kon$ , rovina vzorku  $V$ , referenční rovina  $R$ .

Tabulka 3: Optické parametry osvětlovací části objektové větve prvního návrhu. Hodnoty zaokrouhleny. Zrcadlo  $Z_{o3}$  je sklopeno o  $51^\circ$  vzhledem k optické ose. Ohnisko kondenzoru Kon  $f_{Kon} = 4\text{ mm}$ .

Povrch	Komponenta	Rádus [mm]	Tloušťka [mm]	Materiál	Optický průměr [mm]
1	Zd	-	82,0	-	3,0
2	Kol <sub>1</sub>	146,45	3,0	N-SF5	24,0
3	Kol <sub>1</sub>	38,37	5,0	N-SK11	25,0
4	Kol <sub>1</sub>	-55,68	30,0	-	24,0
5	DS	-	20,0	-	31,6
6	Kol <sub>2</sub>	-219,80	4,0	N-BK7	25,4
7	Kol <sub>2</sub>	181,55	2,0	SF2	25,4
8	Kol <sub>2</sub>	738,50	120,6	-	25,4
9	Z <sub>o1</sub>	-	70,0	-	28,0
10	Z <sub>o2</sub>	-	185,7	-	25,4
11	DMD <sub>1</sub>	-	185,7	-	49,6
12	Z <sub>o3</sub>	-	50,0	-	50,8
13	Č <sub>1</sub>	-376,25	2,0	SF2	50,8
14	Č <sub>1</sub>	-93,11	8,5	N-BK7	50,8
15	Č <sub>1</sub>	109,86	50,0	-	50,8
16	Č <sub>2</sub>	-161,50	6,0	N-BK7	50,8
17	Č <sub>2</sub>	134,00	2,0	SF2	50,8
18	Č <sub>2</sub>	580,80	225,7	-	50,8
19	F <sub>Kon</sub>	-	4,0	-	13,2
20	Kon	paraxiální čočka s $f_{Kon}$	4,2	-	14,0

## 5.2 Druhý návrh

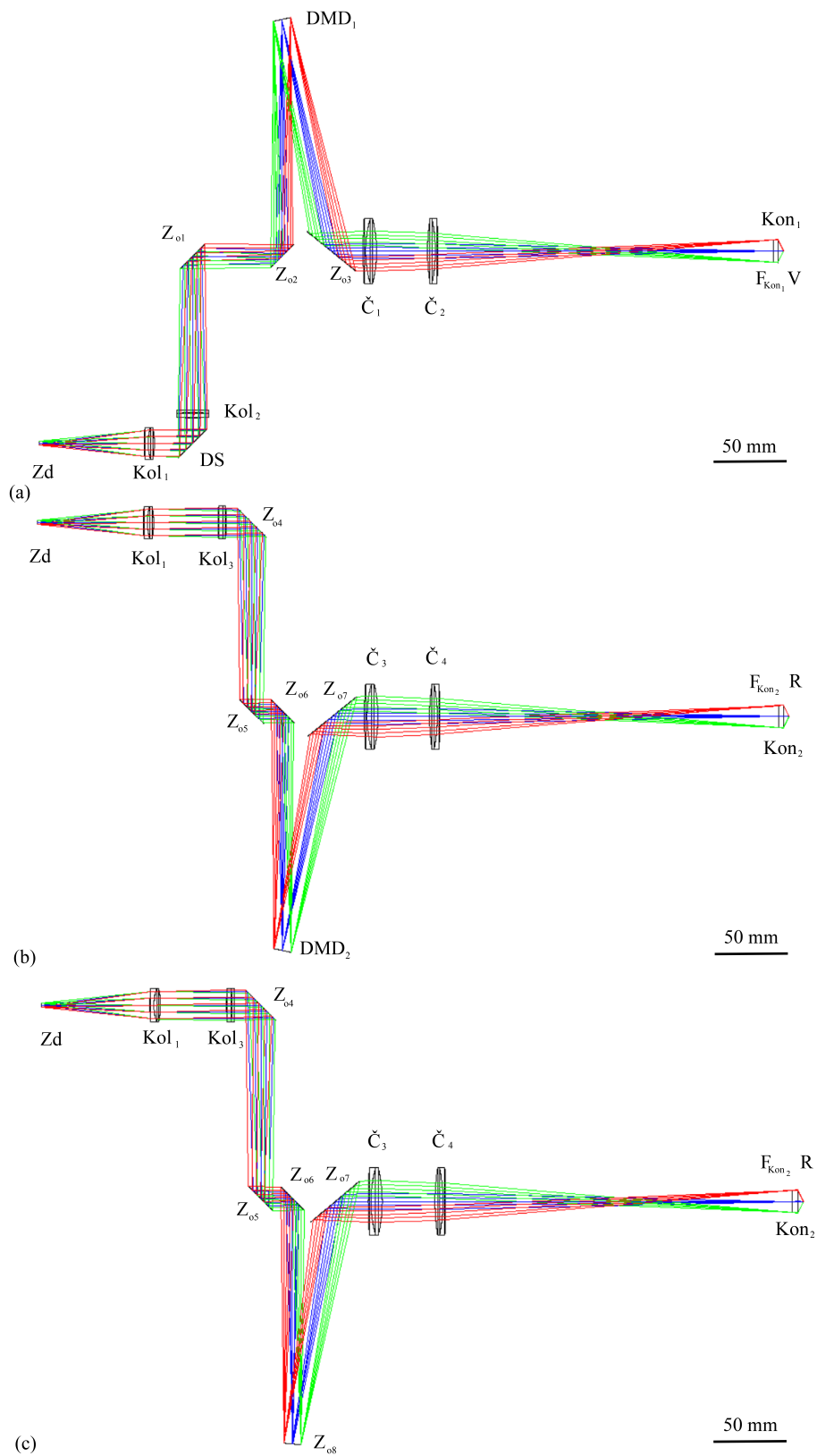
Druhý návrh vychází z prvního, kdy změním polohu DMD čipů tak, že je uložen kolmo k ose odraženého svazku, viz obrázek 18. V tomto případě je splněna podmínka Köhlerova osvětlení, kdy rovina obrazu DMD čipu je opticky sjednocena se zadní ohniskovou rovinou kondenzoru  $F_{Kon}$ .



Obrázek 18: Druhý návrh osvětlovací soustavy. Zdroj světla  $Zd$ , dělič světla  $DS$ , kolektory  $Kol$ , zrcadla  $Z$ , DMD čipy  $DMD$ , pomocné čočky  $\check{C}$ , kondenzory  $Kon$ , zadní ohniskové roviny  $F_{Kon}$ , rovina vzorku  $V$ , referenční rovina  $R$ , ohniskové vzdálenosti optických prvků  $f$ , pracovní vzdálenosti kondenzorů  $pv$ , rozteč os větví  $r$ .

Kontrast interferenčních proužků v hologramu je dán poměry intenzit světla v obou větvích CCHM. Hologram zpravidla obsahuje aditivní šum CMOS kamery. Je-li celková intenzita dopadajícího světla malá, pak ve výsledném hologramu představuje šum výraznou složku. Je-li ale jedna z větví intenzitně silnější, pak se stejný aditivní šum vůči celkové intenzitě zaznamenané na kameře neprojeví v takové míře a je možná kvalitnější rekonstrukce hologramu. Proto jsem navrhla dvě řešení referenční větve, jedno osově symetrické s objektovou větví s využitím DMD čipu, viz obrázek 19(b), a druhé bez DMD čipu, jen s pomocí zrcadel, viz obrázek 19(c).





Obrázek 19: Simulace druhého návrhu osvětlovací soustavy. (a) Objektová větev druhého návrhu, (b) referenční větev s DMD čipem, (c) referenční větev bez DMD čipu. Zdroj světla  $Z_d$ , dělič světla  $DS$ , kolektory  $Kol$ , zrcadla  $Z$ , DMD čipy  $DMD$ , pomocné čočky  $\check{C}$ , zadní ohnisková rovina kondenzoru  $F_{Kon}$ , kondenzory  $Kon$ , rovina vzorku  $V$ , referenční rovina  $R$ .

Optické parametry osvětlovací části objektové větve jsou uvedeny v tabulce 4, referenční větve s DMD čipem v tabulce 5 a referenční větve bez DMD čipu v tabulce 6.

Tabulka 4: Optické parametry osvětlovací části objektové větve druhého návrhu. Hodnoty zaokrouhleny. Zrcadlo  $Z_{o3}$  je sklopeno o  $51^\circ$  vzhledem k optické ose. Ohnisko kondenzoru Kon  $f_{Kon} = 4\text{ mm}$ .

Povrch	Komponenta	Rádus [mm]	Tloušťka [mm]	Materiál	Optický průměr [mm]
1	Zd	-	82,0	-	3,0
2	Kol <sub>1</sub>	146,45	3,0	N-SF5	24,0
3	Kol <sub>1</sub>	38,37	5,0	N-SK11	25,0
4	Kol <sub>1</sub>	-55,68	30,0	-	24,0
5	DS	-	20,0	-	31,6
6	Kol <sub>2</sub>	219,80	4,0	N-BK7	25,4
7	Kol <sub>2</sub>	-181,55	2,0	SF2	25,4
8	Kol <sub>2</sub>	-738,50	120,6	-	25,4
9	Z <sub>o1</sub>	-	70,0	-	28,0
10	Z <sub>o2</sub>	-	185,7	-	25,4
11	DMD <sub>1</sub>	-	185,7	-	13,8
12	Z <sub>o3</sub>	-	2,1	-	49,6
13	Č <sub>1</sub>	376,25	2,0	SF2	50,8
14	Č <sub>1</sub>	93,11	8,5	N-BK7	50,8
15	Č <sub>1</sub>	-109,86	40,0	-	50,8
16	Č <sub>2</sub>	161,50	6,0	N-BK7	50,8
17	Č <sub>2</sub>	-134,00	2,0	SF2	50,8
18	Č <sub>2</sub>	-580,80	262,8	-	50,8
19	F <sub>Kon</sub>	-	4,0	-	17,6
20	Kon	paraxiální čočka s $f_{Kon}$	4,1	-	18,2

Tabulka 5: Optické parametry osvětlovací části referenční větve s DMD čipem druhého návrhu. Hodnoty zaokrouhleny. Zrcadlo  $Z_{o7}$  je sklopeno o  $51^\circ$  vzhledem k optické ose. Ohnisko kondenzoru Kon  $f_{\text{Kon}} = 4 \text{ mm}$ .

Povrch	Komponenta	Rádus [mm]	Tloušťka [mm]	Materiál	Optický průměr [mm]
1	Zd	-	82,0	-	3,0
2	Kol <sub>1</sub>	146,45	3,0	N-SF5	24,0
3	Kol <sub>1</sub>	38,37	5,0	N-SK11	25,0
4	Kol <sub>1</sub>	-55,68	50,0	-	24,0
5	Kol <sub>3</sub>	219,80	4,0	N-BK7	25,4
6	Kol <sub>3</sub>	-181,55	2,0	SF2	25,4
7	Kol <sub>3</sub>	-738,50	20,0	-	25,4
8	Z <sub>o4</sub>	-	146,6	-	31,6
9	Z <sub>o5</sub>	-	24,0	-	26,4
10	Z <sub>o6</sub>	-	185,7	-	25,6
11	DMD <sub>2</sub>	-	185,7	-	13,6
12	Z <sub>o7</sub>	-	25,0	-	48,8
13	Č <sub>3</sub>	376,25	2,0	SF2	50,8
14	Č <sub>3</sub>	93,11	8,5	N-BK7	50,8
15	Č <sub>3</sub>	-109,86	40,0	-	50,8
16	Č <sub>4</sub>	161,50	6,0	N-BK7	50,8
17	Č <sub>4</sub>	-134,00	2,0	SF2	50,8
18	Č <sub>4</sub>	-580,80	262,8	-	50,8
19	F <sub>Kon</sub>	-	4,0	-	17,6
20	Kon	paraxiální čočka s $f_{\text{Kon}}$	4,1	-	18,2

Tabulka 6: Optické parametry osvětlovací části referenční větve bez DMD čipu druhého návrhu. Hodnoty zaokrouhleny. Zrcadlo  $Z_{o7}$  je sklopeno o  $51^\circ$  vzhledem k optické ose, zrcadlo  $Z_{o8}$  je sklopeno o  $5^\circ$  vzhledem k optické ose. Ohnisko kondenzoru Kon  $f_{Kon} = 4\text{ mm}$ .

Povrch	Komponenta	Rádus [mm]	Tloušťka [mm]	Materiál	Optický průměr [mm]
1	Zd	-	82,0	-	3,0
2	Kol <sub>1</sub>	146,45	3,0	N-SF5	24,0
3	Kol <sub>1</sub>	38,37	5,0	N-SK11	25,0
4	Kol <sub>1</sub>	-55,68	50,0	-	24,0
5	Kol <sub>3</sub>	219,80	4,0	N-BK7	25,4
6	Kol <sub>3</sub>	-181,55	2,0	SF2	25,4
7	Kol <sub>3</sub>	-738,50	20,0	-	25,4
8	Z <sub>o4</sub>	-	146,6	-	31,6
9	Z <sub>o5</sub>	-	24,0	-	27,2
10	Z <sub>o6</sub>	-	185,7	-	25,6
11	Z <sub>o8</sub>	-	185,7	-	13,4
12	Z <sub>o7</sub>	-	25,0	-	48,0
13	Č <sub>3</sub>	376,25	2,0	SF2	50,8
14	Č <sub>3</sub>	93,11	8,5	N-BK7	50,8
15	Č <sub>3</sub>	-109,86	40,0	-	50,8
16	Č <sub>4</sub>	161,50	6,0	N-BK7	50,8
17	Č <sub>4</sub>	-134,00	2,0	SF2	50,8
18	Č <sub>4</sub>	-580,80	262,8	-	50,8
19	F <sub>Kon</sub>	-	4,0	-	17,0
20	Kon	paraxiální čočka s $f_{Kon}$	4,1	-	16,2

Uspořádání optických soustav osvětlení s DMD čipy vnáší deformaci roviny zdroje Zd, která by měla být identická pro obě větve interferometru. Míru deformace mohu zjistit, pokud zaostřuji jednotlivé body zdroje Zd s co nejmenšími vadami do rovin DMD čipů, tedy do zadních ohniskových rovin kondenzorů  $F_{Kon}$ .

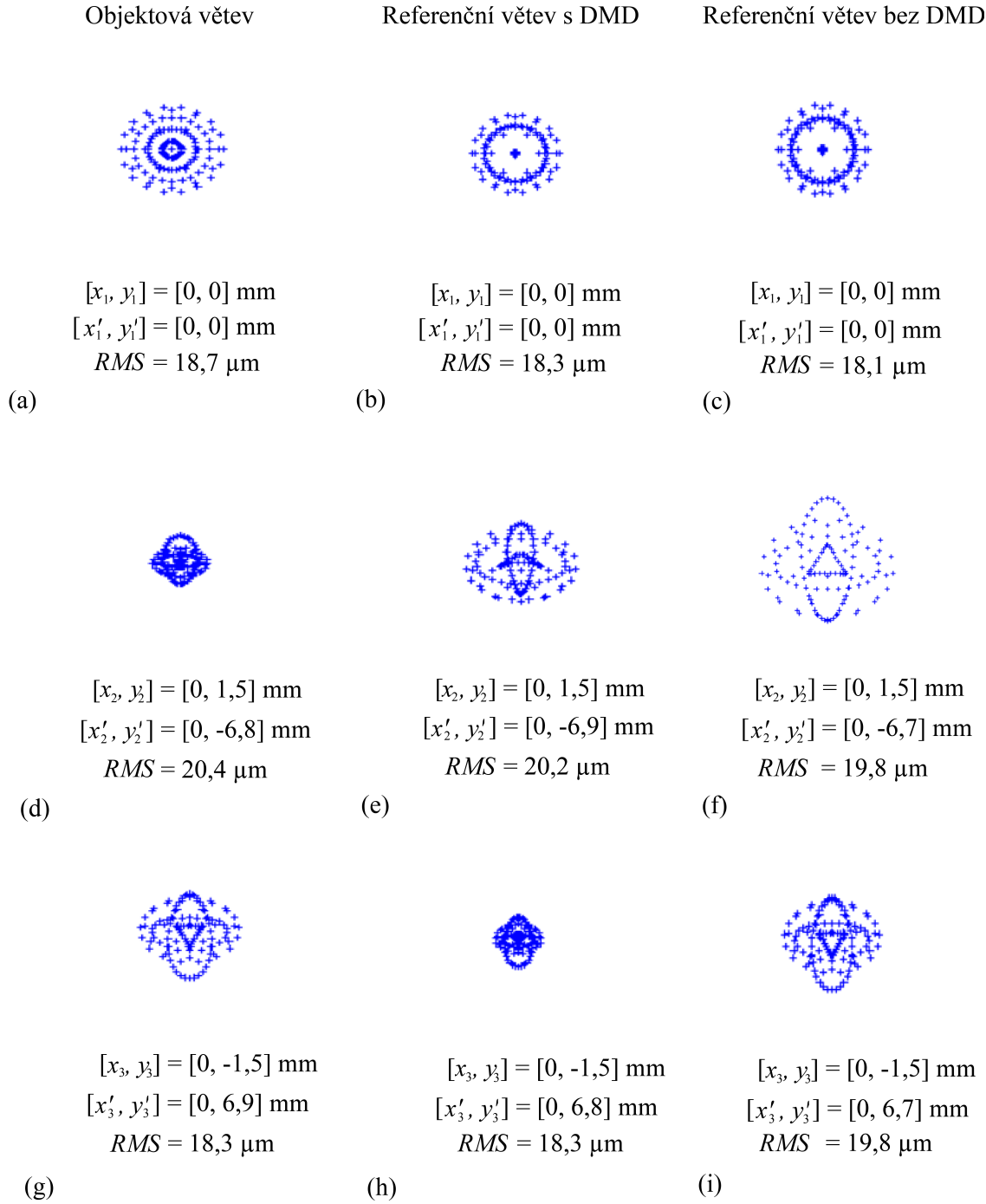
V rovině zdroje Zd tedy zaostřuji středový bod se souřadnicemi  $[x_1, y_1] = [0, 0]$  mm, a dva okrajové body se souřadnicemi  $[x_2, y_2] = [0, 1,5]$  mm a  $[x_3, y_3] = [0, -1,5]$  mm, což odpovídá velikosti průměru zdroje  $d_{Zd}$ . Nejmenší vadu jsem zjistila pomocí zobrazení těchto bodů na rovinu DMD čipů a zrcadla  $Z_{o8}$ , kde jsem požadovala nejmenší možnou velikost spotu, která je dána poloměrem  $RMS$ . Spoty a jejich velikosti jsou uvedeny na obrázku 20. Díky tomu bylo zjištěno, že body zdroje Zd bylo třeba posunout z teoretických poloh 82 mm před kolektorem  $Kol_1$  o malou vzdálenost  $\Delta p$ , viz tabulka 7. Ta by měla být menší než hloubka ostrosti  $G$  soustavy kolektorů  $Kol$  s obrazovým ohniskem  $f' \cong 376,3$  mm a průměrem kolektorů  $d_{Kol} = 25$  mm. Podle [39] platí vztah:

$$G = -\frac{f'^3}{y_0 \cdot d_{Kol}}, \quad (6)$$

kde tolerovaná neostrost  $y_0 = \frac{f'}{1000}$ . Je zřejmé, že  $f'^3$  je velké číslo, které podělíme malým číslem  $y_0 \cdot d_{Kol}$ . Z tohoto výpočtu bylo zjištěno, že vzdálenosti  $\Delta p \ll G$ . Protože jsou takto rozdílné polohy bodů zdroje Zd vzhledem k zobrazovacím vlastnostem zbytku optické soustavy CCHM prakticky nerozlišitelné, mohu si dovolit je zanedbat.

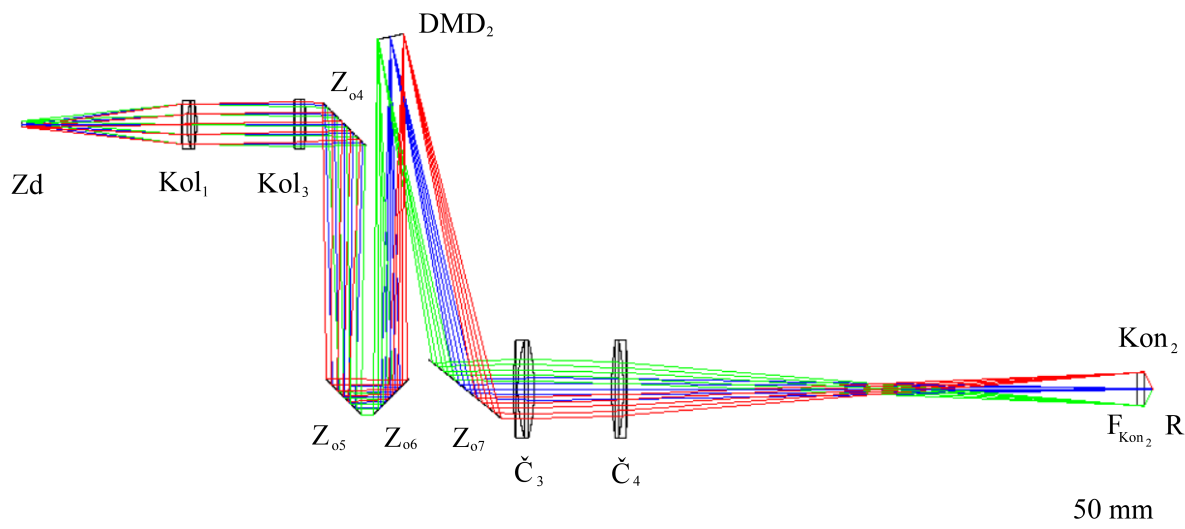
Tabulka 7: Polohy jednotlivých bodů zdroje Zd pro obě větve druhého návrhu osvětlovací soustavy.

Souřadnice bodů zdroje Zd	Vzdálenost	Objektová větev	Referenční větev s DMD čipem	Referenční větev bez DMD čipu
$[x_1, y_1] = [0, 0]$ mm	$\Delta p_1$ [mm]	-0,05	-0,04	-0,04
$[x_2, y_2] = [0, 1,5]$ mm	$\Delta p_2$ [mm]	0,00	-0,16	-0,10
$[x_3, y_3] = [0, -1,5]$ mm	$\Delta p_3$ [mm]	-0,15	0,00	-0,05



Obrázek 20: Zobrazení bodů zdroje Zd do rovin DMD čipů a zrcadla  $Z_{08}$ . (a), (b), (c) Zobrazení osového bodu zdroje Zd, (d), (e), (f) zobrazení prvního okrajového bodu zdroje Zd, (g), (h), (i) zobrazení druhého okrajového bodu zdroje Zd. Souřadnice bodů na zdroji  $Zd$   $x, y$ , souřadnice jejich obrazů v rovině DMD čipu  $x', y'$ . Poloměr spotu  $RMS$ . Hodnoty zaokrouhleny.

Pamatujme také na to, že je nutno z jednoho bodu zdroje  $Z_d$  osvětlit rovinu vzorku  $V$  a referenční rovinu  $R$  symetricky vůči ose interferometru, jak vyžaduje zobrazovací soustava mikroskopu, viz obrázek 9. Z toho vyplývá požadavek na osvit. Tuto možnost jsem ověřila pomocí programu Zemax, viz barevné označení jednotlivých bodů v obrázku 18. Alternativně k referenční větvi s DMD je také možné otočit zrcadla  $Z_{o6}$  a  $Z_{o7}$  tak, aby DMD<sub>2</sub> bylo umístěno uvnitř uspořádání, viz obrázek 21.



Obrázek 21: Ověření chodu paprsků při změně orientace části větve s DMD čipem. Zdroj světla  $Z_d$ , kolektory  $Kol$ , zrcadla  $Z$ , DMD čip  $DMD$ , pomocné čočky  $\check{C}$ , zadní ohnisková rovina kondenzoru  $F_{Kon}$ , kondenzory  $Kon$ , referenční rovina  $R$ .

Dále byly provedeny důkladné analýzy výpočtu délek optických drah paprsků, vycházejících z bodů zdroje Zd, procházející středem pupily soustavy, která je umístěna na prvním lámavém povrchu Kol<sub>1</sub>. Ty byly zjištěny pomocí simulací a jsou uvedeny v tabulce 8. Srovnávám objektovou větev s referenční větví s DMD čipem a s referenční větví bez DMD čipu každého bodu zdroje Zd. Je požadována stejná optická délka objektové a referenční větve pro paprsky každého bodu zdroje Zd, aby spolu vlny ve výstupní rovině konstruktivně interferovaly. Délky optických drah všech navržených větví osového bodu se souřadnicemi  $[x_1, y_1]$  jsou stejné, nicméně délky okrajových paprsků vycházejících z bodů zdroje Zd se souřadnicemi  $[x_2, y_2]$  a  $[x_3, y_3]$  obou referenčních větví se od délek objektové větve liší téměř v deseti milimetrech, což je nežádoucí. Díky výsledkům této analýzy je vyvozováno závěru, že druhý návrh osvětlovací soustavy není hoden podrobnějšího zkoumání.

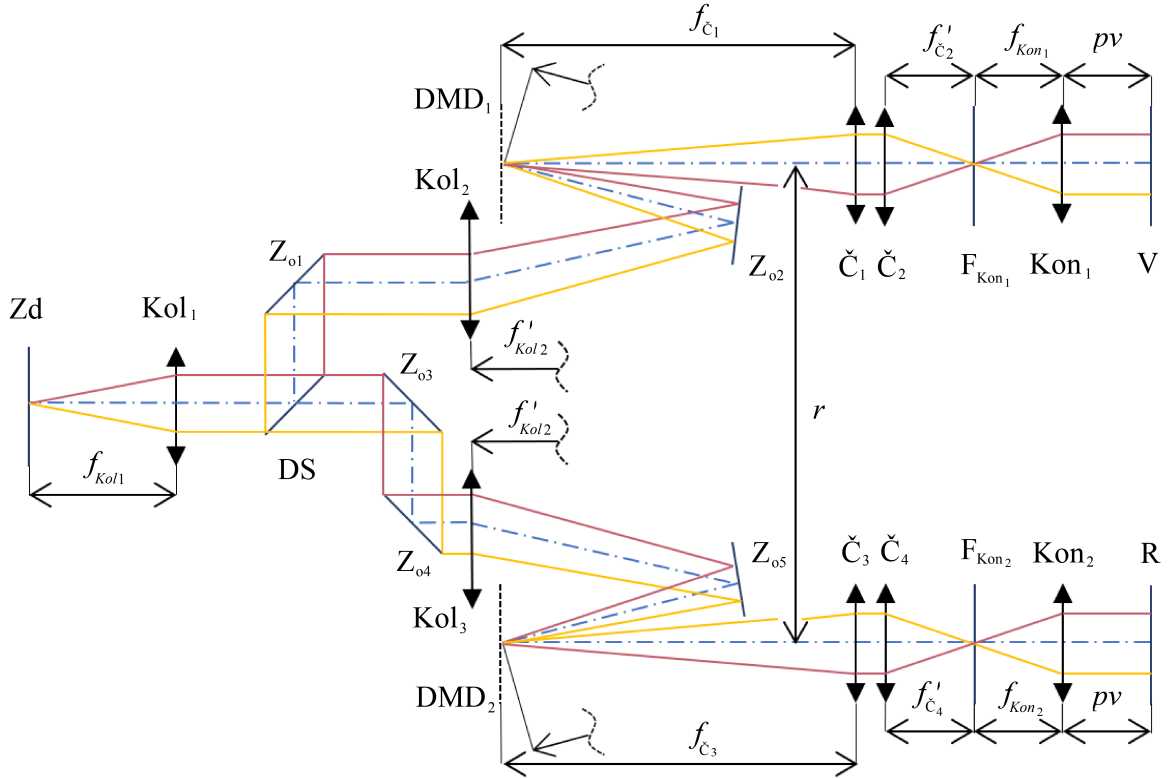
Tabulka 8: Délky optických drah objektové i referenčních větví druhého návrhu osvětlovací soustavy. Hodnoty jsou zaokrouhleny.

Souřadnice bodů zdroje Zd	Délka objektové větve [mm]	Délka referenční větve s DMD [mm]	Délka referenční větve bez DMD [mm]
$[x_1, y_1] = [0, 0]$ mm	1080,64	1080,64	1080,64
$[x_2, y_2] = [0, 1,5]$ mm	1085,15	1095,12	1095,21
$[x_3, y_3] = [0, -1,5]$ mm	1093,04	1108,28	1109,30



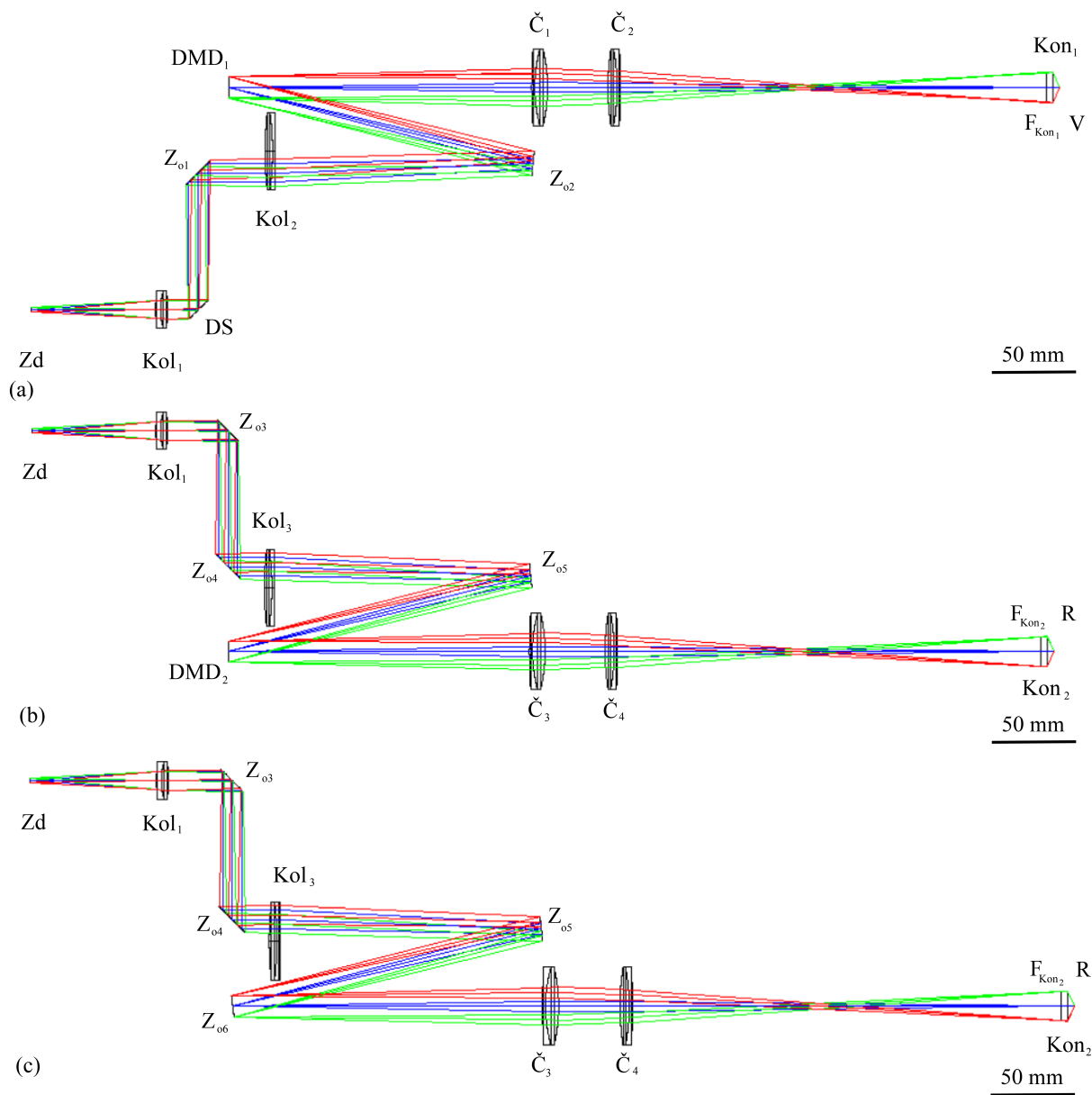
### 5.3 Třetí návrh

Podobně jsem postupovala i při třetím návrhu. Ten byl inspirován prací MacAulaye a Dlugana [40], kteří při zobrazování pomocí DMD čipu vychýlili optický svazek světla vyosenou spojnou čočkou. Jak je schématicky znázorněno na obrázku 22, v návrhu byly vychýleny kolektory  $Kol_{2,3}$ . Používám stejné optické prvky jako v předchozích případech. Jedinou změnou jsou právě vychýlené kolektory  $Kol_{2,3}$ . Jedná se o dublet AC508-400-A-ML od firmy ThorLabs s ohniskovou vzdáleností  $f_{Kol_{2,3}} = 400$  mm a větším optickým průměrem  $f_{Kol} = 50$  mm. Jelikož byla vybrána čočka se stejnou ohniskovou vzdáleností  $f_{Kol_{2,3}}$  jako v předchozích návrzích, zvětšení kolektorů  $Kol$  je beze změny  $M_1 = 4,7$ .



Obrázek 22: Třetí návrh osvětlovací soustavy. Zdroj světla  $Zd$ , dělič světla  $DS$ , kolektory  $Kol$ , zrcadla  $Z$ , DMD čipy  $DMD$ , pomocné čočky  $\check{C}$ , zadní ohniskové roviny kondenzorů  $F_{Kon}$ , kondenzory  $Kon$ , rovina vzorku  $V$ , referenční rovina  $R$ , ohniskové vzdálenosti optických prvků  $f$ , pracovní vzdálenosti kondenzorů  $pv$ , rozteč os větví  $r$ .

Zde jsem také navrhla dvě optické uspořádání referenční větve, jedno symetrické s objektovou větví s využitím DMD čipu, viz obrázek 23(b), a druhé bez použití DMD čipu, jen s pomocí zrcadel, viz obrázek 23(c).



Obrázek 23: Simulace třetího návrhu osvětlovací soustavy. (a) Objektová větev třetího návrhu, (b) referenční větev s DMD čipem, (c) referenční větev bez DMD čipu. Zdroj světla  $Z_d$ , dělič světla  $DS$ , kolektory  $Kol$ , zrcadla  $Z$ , DMD čipy  $DMD$ , pomocné čočky  $\check{C}$ , zadní ohniskové roviny kondenzorů  $F_{Kon}$ , kondenzory  $Kon$ , rovina vzorku  $V$ , referenční rovina  $R$ .

Optické parametry osvětlovací části objektové větve jsou uvedeny v tabulce 9, referenční větve s DMD čipem v tabulce 10 a referenční větve bez DMD čipu v tabulce 11.

Tabulka 9: Optické parametry osvětlovací části objektové větve třetího návrhu. Hodnoty zaokrouhleny. Kolektor Kol<sub>2</sub> je vyosen o 20 mm, zrcadlo Z<sub>o2</sub> je sklopeno o 6° vzhledem k optické ose. Ohnisko kondenzoru Kon  $f_{\text{Kon}} = 4 \text{ mm}$ .

Povrch	Komponenta	Rádus [mm]	Tloušťka [mm]	Materiál	Optický průměr [mm]
1	Zd	-	82,0	-	3,0
2	Kol <sub>1</sub>	146,45	3,0	N-SF5	24,0
3	Kol <sub>1</sub>	38,37	5,0	N-SK11	25,0
4	Kol <sub>1</sub>	-55,68	20,0	-	24,0
5	DS	-	90,3	-	19,2
6	Z <sub>o1</sub>	-	30,0	-	23,6
7	Kol <sub>2</sub>	219,80	5,0	N-BK7	50,8
8	Kol <sub>2</sub>	-181,55	2,0	SF2	50,8
9	Kol <sub>2</sub>	-760,10	170,0	-	50,8
10	Z <sub>o2</sub>	-	205,0	-	16,0
11	DMD <sub>1</sub>	-	200,0	-	14,0
12	Č <sub>1</sub>	376,25	2,0	SF2	50,8
13	Č <sub>1</sub>	93,11	8,5	N-BK7	50,8
14	Č <sub>1</sub>	-109,86	40,0	-	50,8
15	Č <sub>2</sub>	161,50	6,0	N-BK7	50,8
16	Č <sub>2</sub>	-134,00	2,0	SF2	50,8
17	Č <sub>2</sub>	-580,80	281,9	-	50,8
18	F <sub>Kon</sub>	-	4,0	-	19,8
19	Kon	paraxiální čočka s $f_{\text{Kon}}$	4,1	-	20,4

Tabulka 10: Optické parametry osvětlovací části referenční větve s DMD čipem třetího návrhu. Hodnoty zaokrouhleny. Kolektor Kol<sub>2</sub> je vyosen o 20 mm, zrcadlo Z<sub>o5</sub> je sklopeno o 6° vzhledem k optické ose. Ohnisko kondenzoru Kon  $f_{\text{Kon}} = 4$  mm.

Povrch	Komponenta	Rádus [mm]	Tloušťka [mm]	Materiál	Optický průměr [mm]
1	Zd	-	82,0	-	3,0
2	Kol <sub>1</sub>	146,45	3,0	N-SF5	24,0
3	Kol <sub>1</sub>	38,37	5,0	N-SK11	25,0
4	Kol <sub>1</sub>	-55,68	30,0	-	24,0
5	Z <sub>o3</sub>	-	90,3	-	20,2
6	Z <sub>o4</sub>	-	10,0	-	24,6
7	Kol <sub>3</sub>	219,80	5,0	N-BK7	50,8
8	Kol <sub>3</sub>	-181,55	2,0	SF2	50,8
9	Kol <sub>3</sub>	-760,10	170,0	-	50,8
10	Z <sub>o5</sub>	-	205	-	16,0
11	DMD <sub>2</sub>	-	200,0	-	14,2
12	Č <sub>3</sub>	376,25	2,0	SF2	50,8
13	Č <sub>3</sub>	93,11	8,5	N-BK7	50,8
14	Č <sub>3</sub>	-109,86	40,0	-	50,8
15	Č <sub>4</sub>	161,50	6,0	N-BK7	50,8
16	Č <sub>4</sub>	-134,00	2,0	SF2	50,8
17	Č <sub>4</sub>	-580,80	225,7	-	50,8
18	F <sub>Kon</sub>	-	4,0	-	19,8
19	Kon	paraxiální čočka s $f_{\text{Kon}}$	4,1	-	20,2

Tabulka 11: Optické parametry osvětlovací části referenční větve bez DMD čipu třetího návrhu. Hodnoty zaokrouhleny. Kolektor Kol<sub>2</sub> je vyosen o 20 mm, zrcadlo Z<sub>o5</sub> je sklopeno o 6° vzhledem k optické ose a zrcadlo Z<sub>o6</sub> je sklopeno o 7 mm vzhledem k optické ose. Ohnisko kondenzoru Kon  $f_{\text{Kon}} = 4$  mm.

Povrch	Komponenta	Rádus [mm]	Tloušťka [mm]	Materiál	Optický průměr [mm]
1	Zd	-	82,0	-	3,0
2	Kol <sub>1</sub>	146,45	3,0	N-SF5	24,0
3	Kol <sub>1</sub>	38,37	5,0	N-SK11	25,0
4	Kol <sub>1</sub>	-55,68	41,2	-	24,0
5	Z <sub>o3</sub>	-	90,3	-	20,2
6	Z <sub>o4</sub>	-	10,0	-	24,6
7	Kol <sub>2</sub>	219,80	5,0	N-BK7	50,8
8	Kol <sub>2</sub>	-181,55	2,0	SF2	50,8
9	Kol <sub>2</sub>	-760,10	170,0	-	50,8
10	Z <sub>o5</sub>	-	205,0	-	16,0
11	Z <sub>o6</sub>	-	200,0	-	13,8
12	Č <sub>3</sub>	376,25	2,0	SF2	50,8
13	Č <sub>3</sub>	93,11	8,5	N-BK7	50,8
14	Č <sub>3</sub>	-109,86	40,0	-	50,8
15	Č <sub>4</sub>	161,50	6,0	N-BK7	50,8
16	Č <sub>4</sub>	-134,00	2,0	SF2	50,8
17	Č <sub>4</sub>	-580,80	279,2	-	50,8
18	F <sub>Kon</sub>	-	4,0	-	18,8
19	Kon	paraxiální čočka s $f_{\text{Kon}}$	4,1	-	19,4

Byl zjištěn podobný jev deformace roviny zdroje jako u druhého návrhu. Jednotlivé body zdroje Zd, které jsou voleny shodně jako při druhém návrhu v části 5.2, zaostřují s co nejmenšími vadami do rovin DMD čipů a zrcadla  $Z_{o6}$ , resp. do zadních ohniskových rovin kondenzorů  $F_{Kon}$ . Tyto body byly opět posunuty o malou vzdálenost  $\Delta p$ , viz tabulka 12 a obrázek 24, která by měla být v obou větvích interferometru stejná. Nicméně interferenci paprsků zjištěná deformace nebrání, protože je tato vzdálenost menší, než hloubka ostroty soustavy kolektorů.





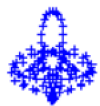




Tabulka 12: Polohy jednotlivých bodů zdroje Zd pro obě větve třetího návrhu osvětlovací soustavy.

Souřadnice bodů zdroje Zd	Vzdálenost	Objektová větev	Referenční větev s DMD čipem	Referenční větev bez DMD čipu
$[x_1, y_1] = [0, 0]$ mm	$\Delta p_1$ [mm]	-0,0080	0,0080	0,0000
$[x_2, y_2] = [0, 1,5]$ mm	$\Delta p_2$ [mm]	0,0035	-0,1000	-0,0560
$[x_3, y_3] = [0, -1,5]$ mm	$\Delta p_3$ [mm]	-0,1000	0,0280	-0,0090

Také u třetího návrhu byly provedeny důkladné analýzy výpočtu délek optických drah paprsků, vycházejících z bodů zdroje Zd, procházející středem pupily soustavy, která je umístěna na prvním lámavém povrchu  $Kol_1$ , podobně jako v části 5.2. Ty byly zjištěny pomocí simulací a jsou uvedeny v tabulce 13. Srovnávám objektovou větev s referenční větví s DMD čipem a referenční větví bez DMD čipu každého bodu zdroje Zd. Délky optických drah všech navržených větví osového bodu se souřadnicemi  $[x_1, y_1]$  jsou stejné. Délky okrajových paprsků vycházejících z bodů zdroje Zd se souřadnicemi  $[x_2, y_2]$  a  $[x_3, y_3]$  obou referenčních větví se od délek objektové větve liší v řádu milimetru, což je lepší než v druhém návrhu, nicméně opět nepoužitelné. Vzhledem k povaze zvoleného zdroje Zd je tedy i třetí návrh pro CCHM nevyhovující. Pokud by ale byl zvolen koherentní zdroj osvětlení, pak by takový rozdíl optických drah nezpůsobil výrazné problémy s dosažením konstruktivní interference.

Tabulka 13: Délky optických drah objektové i referenčních větví třetího návrhu osvětlovací soustavy. Hodnoty jsou zaokrouhleny.

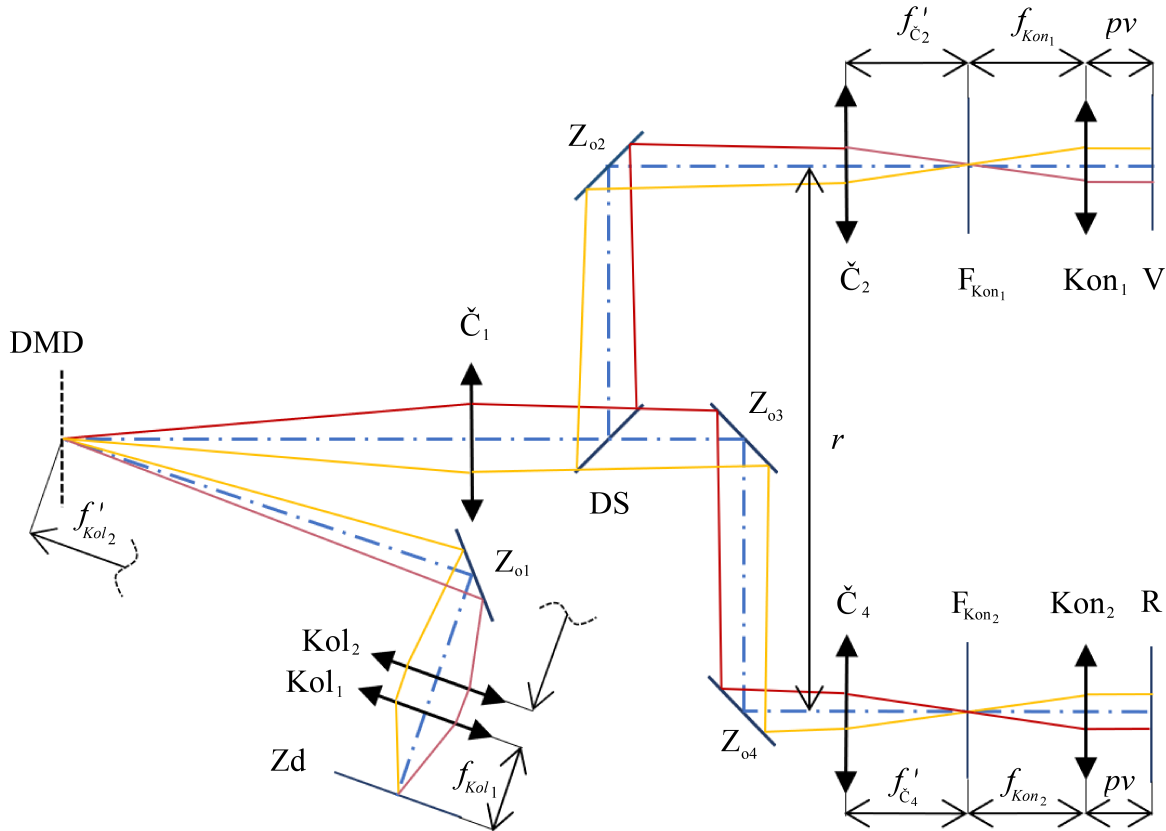
Souřadnice bodů zdroje Zd	Délka objektové větve [mm]	Délka referenční větve s DMD [mm]	Délka referenční větve bez DMD [mm]
$[x_1, y_1] = [0, 0]$ mm	1195,64	1195,64	1195,64
$[x_2, y_2] = [0, 1,5]$ mm	1201,97	1203,37	1202,98
$[x_3, y_3] = [0, -1,5]$ mm	1203,37	1201,97	1201,51

Objektová větev	Referenční větev s DMD	Referenční větev bez DMD
 $[x_1, y_1] = [0, 0] \text{ mm}$ $[x'_1, y'_1] = [0, 0] \text{ mm}$ $RMS = 6,3 \text{ }\mu\text{m}$	 $[x_1, y_1] = [0, 0] \text{ mm}$ $[x'_1, y'_1] = [0, 0] \text{ mm}$ $RMS = 6,3 \text{ }\mu\text{m}$	 $[x_1, y_1] = [0, 0] \text{ mm}$ $[x'_1, y'_1] = [0, 0] \text{ mm}$ $RMS = 6,6 \text{ }\mu\text{m}$
(a)	(b)	(c)
 $[x_2, y_2] = [0, 1,5] \text{ mm}$ $[x'_2, y'_2] = [0, -7,0] \text{ mm}$ $RMS = 8,8 \text{ }\mu\text{m}$	 $[x_2, y_2] = [0, 1,5] \text{ mm}$ $[x'_2, y'_2] = [0, -7,0] \text{ mm}$ $RMS = 7,8 \text{ }\mu\text{m}$	 $[x_2, y_2] = [0, 1,5] \text{ mm}$ $[x'_2, y'_2] = [0, -6,8] \text{ mm}$ $RMS = 7,7 \text{ }\mu\text{m}$
(d)	(e)	(f)
 $[x_3, y_3] = [0, -1,5] \text{ mm}$ $[x'_3, y'_3] = [0, 7,0] \text{ mm}$ $RMS = 7,8 \text{ }\mu\text{m}$	 $[x_3, y_3] = [0, -1,5] \text{ mm}$ $[x'_3, y'_3] = [0, 6,9] \text{ mm}$ $RMS = 8,8 \text{ }\mu\text{m}$	 $[x_3, y_3] = [0, -1,5] \text{ mm}$ $[x'_3, y'_3] = [0, 6,8] \text{ mm}$ $RMS = 8,7 \text{ }\mu\text{m}$
(g)	(h)	(i)

Obrázek 24: Zobrazení bodů zdroje Zd do rovin DMD čipů a zrcadla  $Z_{o6}$ . (a), (b), (c) Zobrazení osového bodu zdroje Zd, (d), (e), (f) zobrazení prvního okrajového bodu zdroje Zd, (g), (h), (i) zobrazení druhého okrajového bodu zdroje Zd. Souřadnice bodů na zdroji  $Zd$   $x, y$ , souřadnice jejich obrazů v rovině DMD čipu  $x', y'$ . Poloměr spotu  $RMS$ . Hodnoty zaokrouhleny.

## 5.4 Čtvrtý návrh

Čtvrtý návrh byl navržen tak, aby bylo osvětlení DMD čipu stejné pro obě větve CCHM. Je tedy použit jen jeden DMD čip, viz obrázek 25. Zdroj  $Z_d$  je kolektory  $Kol_{1,2}$  zobrazován na DMD čip shodně pro obě větve interferometru. DMD čip je následně pomocnými čočkami  $\check{C}_1$  a  $\check{C}_{2,4}$  zobrazován do zadních ohniskových rovin kondenzorů  $F_{Kon}$ . Pro simulaci v optickém programu Zemax byly použity stejné optické prvky jako ve třetím návrhu.



Obrázek 25: Čtvrtý návrh osvětlovací soustavy. Zdroj světla  $Z_d$ , dělič světla  $DS$ , kolektory  $Kol$ , zrcadla  $Z$ , DMD čipy  $DMD$ , pomocné čočky  $\check{C}$ , zadní ohniskové roviny kondenzorů  $F_{Kon}$ , kondenzory  $Kon$ , rovina vzorku  $V$ , referenční rovina  $R$ , ohniskové vzdálenosti optických prvků  $f$ , pracovní vzdálenosti kondenzorů  $pv$ , rozteč os větví  $r$ .



Optické parametry osvětlovací části objektové větve jsou uvedeny v tabulce 14 a referenční větve v tabulce 15.

Tabulka 14: Optické parametry osvětlovací části objektové větve čtvrtého návrhu. Hodnoty zaokrouhleny. Ohnisko kondenzoru Kon  $f_{\text{Kon}} = 4 \text{ mm}$ .

Povrch	Komponenta	Rádus [mm]	Tloušťka [mm]	Materiál	Optický průměr [mm]
1	Zd	-	82,0	-	3,0
2	Kol <sub>1</sub>	146,45	3,0	N-SF5	25,0
3	Kol <sub>1</sub>	38,37	5,0	N-SK11	25,0
4	Kol <sub>1</sub>	-55,68	10,0	-	25,0
5	Kol <sub>2</sub>	219,80	5,0	N-BK7	25,0
6	Kol <sub>2</sub>	-181,55	2,0	SF2	25,0
7	Kol <sub>2</sub>	-738,50	126,3	-	25,0
8	Z <sub>o1</sub>	-	250,0	-	32,2
9	DMD <sub>1</sub>	-	235,7	-	19,8
10	Č <sub>1</sub>	376,25	2,0	SF2	50,8
11	Č <sub>1</sub>	93,11	8,5	N-BK7	50,8
12	Č <sub>1</sub>	-109,86	50,0	-	50,8
13	Z <sub>o2</sub>	-	146,6	-	59,6
14	Z <sub>o2</sub>	-	100,0	-	31,0
16	Č <sub>2</sub>	161,50	6,0	N-BK7	50,0
17	Č <sub>2</sub>	-134,00	2,0	SF2	50,0
18	Č <sub>2</sub>	-580,80	216,1	-	50,0
19	F <sub>Kon</sub>	-	4,0	-	19,8
20	Kon	paraxiální čočka s $f_{\text{Kon}}$	4,1	-	20,4

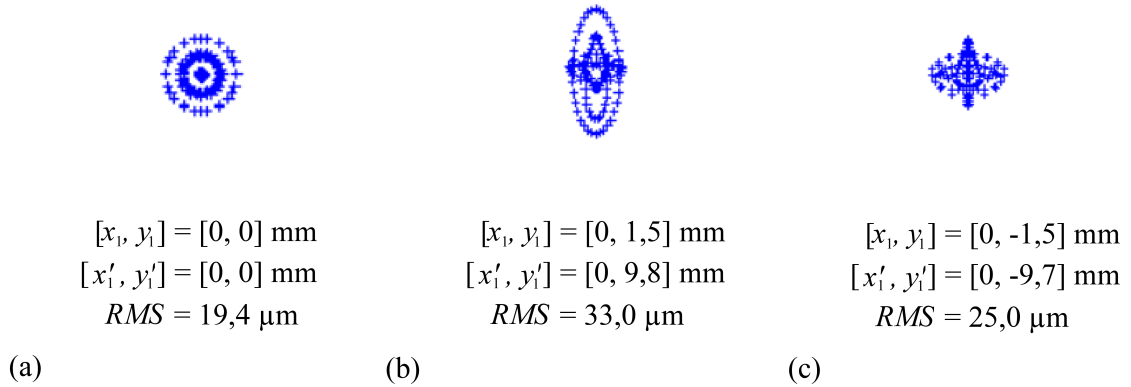
Tabulka 15: Optické parametry osvětlovací části referenční větve čtvrtého návrhu. Hodnoty zaokrouhleny. Ohnisko kondenzoru Kon  $f_{\text{Kon}} = 4 \text{ mm}$ .

Povrch	Komponenta	Rádus [mm]	Tloušťka [mm]	Materiál	Optický průměr [mm]
1	Zd	-	82,0	-	3,0
2	Kol <sub>1</sub>	146,45	3,0	N-SF5	25,0
3	Kol <sub>1</sub>	38,37	5,0	N-SK11	25,0
4	Kol <sub>1</sub>	-55,68	10,0	-	25,0
5	Kol <sub>2</sub>	219,80	5,0	N-BK7	25,0
6	Kol <sub>2</sub>	-181,55	2,0	SF2	25,0
7	Kol <sub>2</sub>	-738,50	126,3	-	25,0
8	Z <sub>o1</sub>	-	250,0	-	32,2
9	DMD <sub>1</sub>	-	235,7	-	19,8
10	Č <sub>1</sub>	376,25	2,0	SF2	50,8
11	Č <sub>1</sub>	93,11	8,5	N-BK7	50,8
12	Č <sub>1</sub>	-109,86	100,0	-	50,8
13	DS	-	146,6	-	49,6
14	Z <sub>o2</sub>	-	50,0	-	22,2
15	Z <sub>o3</sub>	-	205,0	-	16,0
16	Č <sub>2</sub>	161,50	6,0	N-BK7	50,0
17	Č <sub>2</sub>	-134,00	2,0	SF2	50,0
18	Č <sub>2</sub>	-580,80	216,1	-	50,0
19	F <sub>Kon</sub>	-	4,0	-	19,8
20	Kon	paraxiální čočka s $f_{\text{Kon}}$	4,1	-	20,4

Již z návrhu vyplývá, že deformace roviny zdroje Zd je pro obě větve interferometru stejná. Opět zaostřuji s co nejmenšími vadami jednotlivé body zdroje Zd  $[x_1, y_1]$ ,  $[x_2, y_2]$  a  $[x_3, y_3]$  na rovinu DMD čipu, tj. zároveň do zadních ohniskových rovin kondenzorů  $F_{\text{Kon}}$ , jako v části 5.2 a 5.3, viz obrázek 26. Jelikož byl použit stejný kolektor  $Kol_1$ , teoretická vzdálenost od roviny zdroje Zd ke kolektoru  $Kol_1$  je 82 mm. Body zdroje Zd byly posunuty o malou vzdálenost  $\Delta p$ , viz tabulka 16, která je v obou větvích interferometru stejná.

Tabulka 16: Polohy jednotlivých bodů zdroje Zd pro obě větve čtvrtého návrhu osvětlovací soustavy.

Souřadnice bodů zdroje Zd	Vzdálenost	Objektová větev	Referenční větev
$[x_1, y_1] = [0, 0]$ mm	$\Delta p_1$ [mm]	0,058	0,058
$[x_2, y_2] = [0, 1,5]$ mm	$\Delta p_2$ [mm]	0,190	0,190
$[x_3, y_3] = [0, -1,5]$ mm	$\Delta p_3$ [mm]	0,038	0,038



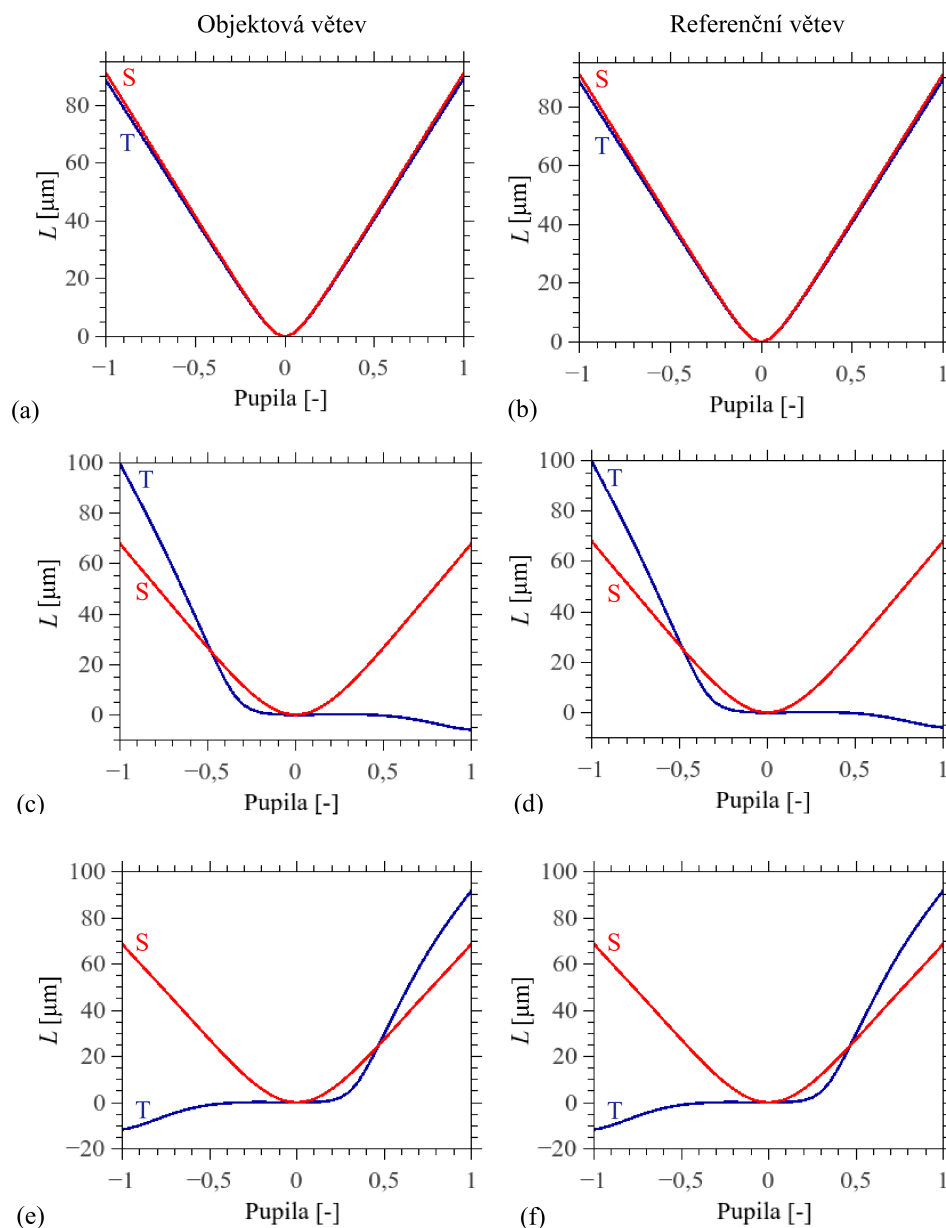
Obrázek 26: Zobrazení bodů zdroje Zd na rovinu DMD čipu. (a) Zobrazení osového bodu zdroje Zd, (b) zobrazení prvního okrajového bodu zdroje Zd, (c) zobrazení druhého okrajového bodu zdroje Zd. Souřadnice bodů na zdroji Zd  $x, y$ , souřadnice jejich obrazů v rovině DMD čipu  $x', y'$ . Poloměr spotu  $RMS$ . Hodnoty zaokrouhleny.

Analýzy výpočtu délek optických drah paprsků vycházejících z bodů zdroje Zd, procházející středem pupily soustavy, která je umístěna na prvním lámavém povrchu Kol<sub>1</sub>, byly provedeny také u čtvrtého návrhu podobně jako v části 5.2 a 5.3. Délky optických drah jsou uvedeny v tabulce 17. Srovnávám objektovou větev s referenční větví každého bodu zdroje Zd. Délky optických drah obou navržených větví osového bodu se souřadnicemi  $[x_1, y_1]$  jsou stejné. Délky okrajových paprsků vycházejících z bodů zdroje Zd se souřadnicemi  $[x_2, y_2]$  a  $[x_3, y_3]$  referenční větve se od délek objektové větve liší v řádu  $10^{-6}$ , což je oproti předchozím návrhům velké zlepšení, a proto čtvrtý návrh postoupím poslední analýze.

Tabulka 17: Délky optických drah objektové i referenční větve čtvrtého návrhu osvětlovací soustavy. Hodnoty zaokrouhleny.

Souřadnice bodů zdroje Zd	Délka objektové větve [mm]	Délka referenční větve [mm]
$[x_1, y_1] = [0, 0]$ mm	1275,53	1275,53
$[x_2, y_2] = [0, 1,5]$ mm	1286,45	1286,45
$[x_3, y_3] = [0, -1,5]$ mm	1282,44	1282,44

Zpoždění aperturních paprsků vůči osovému analyzujeme pomocí rozdílu optických drah (OPD, Optical Path Difference). Je potřeba dokázat, že rozdíly drah odpovídajících si aperturních paprsků obou větví interferometru budou malé pro všechny body zdroje  $Z_d$ , a že paprsky spolu budou ve výstupní rovině mikroskopu konstruktivně interferovat. Ovšem ze symetrie návrhu je jasné, že OPD jsou stejné pro všechny body zdroje  $Z_d$ , jelikož se v obou větvích projeví stejné optické vady. Pro jistotu bylo OPD vypočítáno, viz obrázek 27, a ověřeno, že pro každý ze tří zvolených bodů zdroje  $Z_d$   $[x_1, y_1]$ ,  $[x_2, y_2]$  a  $[x_3, y_3]$  je OPD objektové a referenční větve stejné a jejich rozdíly nulové.



Obrázek 27: Optické dráhy  $L$  čtvrtého návrhu. Pupila je umístěna na první kolektorové čočce. Průměr pupily je normován od -1 k 1. (a), (b) Souřadnice bodů zdroje  $[x_1, y_1] = [0, 0]$ , (c), (d) souřadnice bodů zdroje  $[x_2, y_2] = [0, 1, 5]$ , (e), (f) souřadnice bodů zdroje  $[x_3, y_3] = [0, -1, 5]$ . Tangenciální rovina T, sagitální rovina S.

Z toho plyne, že pokud si pro libovolný bod zdroje  $Z_d$  zvolíme v obou větvích paprsek jdoucí libovolným shodným bodem pupily, bude pokračovat po průchodu oběma větvemi interferometru dál do zobrazovací roviny mikroskopu, kde dojde ke konstruktivní interferenci, která bude jen minimálně ovlivněna vadami osvětlovací soustavy mikroskopu.

## 5.5 Shrnutí návrhů

První návrh nesplňoval podmínky Köhlerova osvětlení, a proto nebyl dále analyzován. Další dva návrhy tuto podmínku splňovaly, tudíž byla provedena jejich analýza. Druhý i třetí návrh byl ověřen s dvěma možnostmi referenční větve, a to s použitím DMD čipu a bez něj. Nicméně ani jeden z těchto návrhů nebyl vyhovující z důvodu velkých rozdílů optických drah objektové a referenční větve pro mimoosové body zdroje  $Z_d$ . Proto byl navržen ještě poslední návrh, a to čtvrtý, který má tyto rozdíly prakticky zanedbatelné. Analýza pokračovala ověřením nulových rozdílů OPD objektové a referenční větve v různých bodech zdroje  $Z_d$ , které potvrdily, že čtvrtý návrh osvětlovací soustavy umožňuje konstruktivní interferenci vln na výstupu CCHM při použití zvoleného charakteru zdroje. Nevýhodou návrhu je společný DMD čip pro obě větve, kdy nemůžeme ovlivnit intenzitu světla v obou větvích zvlášť, a tím snížit aditivní šum CMOS kamery. I přes tento nedostatek doporučuji čtvrtý návrh k realizaci.

## Závěr

Předkládaná diplomová práce se ve své první části věnuje stručnému přehledu interferenční a holografické mikroskopie a funkci DMD čipu. Hlavní částí práce je návrh a popis podoby optické cesty Koherencí řízeného holografického mikroskopu s DMD čipem.

Pro zobrazovací soustavu mikroskopu jsem zvolila a proměřila výstupní objektivy mikroskopu a poté tuto zobrazovací část experimentálně ověřila. Pomocí sestavení této části v programu Solidworks jsem zjistila rozteč os větví mikroskopu, která byla klíčová pro další postup při návrhu osvětlovací soustavy. Celkově byly vytvořeny čtyři návrhy osvětlovací soustavy mikroskopu, v jehož objektové, nebo i referenční větvi, je zvoleno umístění DMD čipu tak, aby bylo možno upravovat zobrazovací vlastnosti CCHM. Simulace těchto návrhů byly provedeny v optickém programu Zemax a trasováním paprsků byly vypočteny délky optických drah paprsků. U posledního návrhu byly ověřeny i rozdíly optických drah interferujících paprsků.

Návrh CCHM s digitální optikou v jeho osvětlovací části umožňuje jeho širší využití. Mezi ně patří například plánované experimenty s různými módy osvětlení pro tomografické aplikace, nebo pro úpravu zobrazovacích možností mikroskopu jakou je změna velikosti apertury osvětlení, atd.

Příložené CD obsahuje text této práce v digitální podobě, model zobrazovací soustavy CCHM vytvořené v programu SolidWorks, modely návrhů osvětlovací soustavy CCHM vytvořené v programu Zemax, a výkresy pro výrobu stolku s prostorovým filtrem.





## Literatura

- [1] JANEČKOVÁ, H., VESELÝ, P., CHMELÍK, R. Proving Tumour and Cells by Acute and Nutritional/Energy and Deprivation as a Survival and Threat: A and Task for Microscopy. 2009 s. ANTICANCER RESEARCH 29: 2339–2346.
- [2] DUDLEY, D., DUNCAN, W. M., SLAUGHTER, J. Emerging digital micromirror device (DMD) applications. *Proc.SPIE*, ročník 4985, 2003, s. 4985 – 4985 – 12. Doi: 10.1117/12.480761.
- [3] von LAUE, M. *Dějiny fyziky*. Malá moderní encyklopedie. Orbis, 1959.
- [4] HALLIDAY, D., RESNICK, R., WALKER, J. *Fyzika: vysokoškolská učebnice obecné fyziky*. VUTIUM; Prometheus 2001. s. 1198. ISBN 9788021418691.
- [5] MAXWELL, J. C. A Dynamical Theory of the Electromagnetic Field. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 155. 1865, str. 459–512.
- [6] PLANCK, M. Ueber irreversible Strahlungsvorgänge. *Annalen der Physik* 306, 1900, s. 69–122 Doi:10.1002.
- [7] COMPTON, A. H. A Quantum Theory of the Scattering of X-rays by Light Elements. *Physical Review*, ročník 21, Květen 1923, s. 483–502. Doi:10.1103/PhysRev.21.483.
- [8] MICHELSON, A. A. The Relative Motion of the Earth and the Luminiferous Aether *American Journal of Science* , č. 22, 1881, s. 120–129.
- [9] SIRKS, J. Over een interferentiemicroscop. *Handelingen van het vierde Nederlandsch Natuur- en geneeskundig congres, gehouden te Groningen op den 7den en 8sten April 1893*, ročník 4, č. 2. 1893, s. 92–95.
- [10] BORN, M., WOLF, E. *Principles of Optics*. seventh expanded edition Edition. Cambridge university press, 2002. ISBN 13: 978-0521642224.
- [11] HORN, W. Interference microscope. 1954 . US2694340A.
- [12] DAVIES, H. G., WILKINS, M. H. F. Interference microscopy and mass determination. *Nature, Loud* 1952.
- [13] YAMAGUCHI, I., ZHANG, T. Phase-shifting digital holography. *Opt. Lett.* ročník 22, č. 16. Aug 1997, s. 1268–1270. Doi:10.1364/OL.22.001268.
- [14] GABOR, D. A New Microscopic Principle. *Nature*, ročník 161. Květen 1948, str. 777.
- [15] LEITH, E. N., UPATNIEKS, J. Reconstructed Wavefronts and Communication Theory. *J. Opt. Soc. Am.*, ročník 52, č. 10, Oct 1962, s. 1123–1130. Doi:10.1364/JOSA.52.001123.

- [16] VANLIGTEN, R. F., OSTERBERG, H. Holographic microscopy. *Nature Publishing Group*. Doi:1966doi:10.1038/211282a0.
- [17] MARQUET, P., RAPPAZ, B., MAGISTRETTI, P. J. a. k. Digital holographic microscopy: anoninvasive contrast imaging technique allowing quantitative visualization of living cells with subwavelength axial accuracy. *Opt. Lett.*, ročník 30, č. 5. 2005, str. 468–470. Doi:10.1364/OL.30.000468.
- [18] CHMELÍK, R., HARNA, Z. Surface profilometry by a parallel-mode confocal microscope. *Optical Engineering*, ročník 41, 2002, s. 41 – 41 – 2. Doi:10.1117/1.1461832.
- [19] JANEČKOVÁ, H., KOLMAN, P., VESELÝ, P., a kol. Digital holographic microscope with low spatial and temporal coherence of illumination. in *Photonics Europe*, ročník 7000, International Society for Optics and Photonics, 2008, s. 70002E–70002E. Doi: 10.1117/12.800392.
- [20] KOLMAN, P., CHMELÍK, R. Coherence-controlled holographic microscope. *Opt. Express* ročník 18, č. 21. Říjen 2010, s. 21990–22003. Doi:10.1364/OE.18.021990.
- [21] SLABÝ, T., KOLMAN, P., DOSTÁL, Z., a kol. Off-axis setup taking full advantage of incoherent illumination in coherence-controlled holographic microscope. *Opt. Express*, ročník 21, č. 12. Červen 2013, s. 14747–14762. Doi:10.1364/OE.21.014747.
- [22] POPESCU, G. *Quantitative Phase Imaging of Cells and Tissues*. McGraw-Hill, 2011. ISBN 978-0-07-166343-4 351 s.
- [23] DOSTÁL, Z., SLABÝ, T., KVASNICA, L., a kol. Automated alignment method for coherence-controlled holographic microscope. *Journal of Biomedical Optics*, ročník 20. 2015, s. 20 – 20 – 8. Doi:10.1117/1.JBO.20.11.111215.
- [24] TESCAN ORSAY HOLDING, a. s. URL: <https://www.tescan.com/en-us> [Online; 25. Dubna 2018].
- [25] HECHT, E. *Optics*. Addison-Wesley, 2002. ISBN 9780805385663.
- [26] BOUCHAL, P. *Fresnelova nekoherentní korelační holografie (FINCH)*. Diplomová práce 2010, brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství. 41 s. Vedoucí prof. RNDr. Radim Chmelík, Ph.D.
- [27] ZIKMUND, T., KVASNICA, L., UHLÍŘOVÁ, H., a kol. Dynamical deformation compensation of phase in digital holographic microscopy. 2010. Doi:10.1117/12.882171.
- [28] SALEH, B., TEICH, M. *Základy fotoniky - svazek 2*. Praha: Matfyzpress, 1994. ISBN 9788085863123.
- [29] Texas Instruments Inc. 1995-2018, URL: <http://www.ti.com> [Online; 25. Dubna 2018].

- [30] REICHL, J., VŠETIČKA, M. Encyklopedie fyziky. 2006-2018, URL: <http://fyzika.jreichl.com> [Online; 2. Dubna 2018].
- [31] NESBITT, R. S., SMITH, S. L., MOLNAR, R. A., a kol. Holographic recording using a digital micromirror device. *Proc.SPIE*, ročník 3637, 1999, s. 3637 – 3637 – 9. Doi:10.1117/12.343767.
- [32] SLÁDKOVÁ, L. *Možnosti trojrozměrného zobrazování v transmisním holografickém mikroskopu*. Diplomová práce 2013 brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství. 44 s. Vedoucí Ing. Pavel Kolman, Ph.D.
- [33] Standa LTD. 2000-2018, URL: <http://www.standa.lt> [Online; 12. Května 2018].
- [34] KÖHLER, A. Ein neues Beleuchtungsverfahren für mikrophotographische Zwecke. *Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und mikroskopische Technik*, ročník 10. 1893, s. 433–440.
- [35] MARŠÍKOVÁ, B. *Coherence-gate assisted three-dimensional imaging by holographic microscope*. Diplomová práce 2018 brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství. 57 s. Vedoucí prof. RNDr. Radim Chmelík, Ph.D.
- [36] Mitutoyo Česko s.r.o. URL: <http://www.mitutoyo.cz> [Online; 22. Května 2018].
- [37] Edmund optics Inc. 2018, URL: <https://www.edmundoptics.com> [Online; 22. Května 2018].
- [38] ThorLabs, Inc. 2018, URL: <https://www.thorlabs.com> [Online; 22. Května 2018].
- [39] HAVELKA, B. *Geometrická optika*, číslo svazek 2. in ČSAV.: Sekce matematicko-fyzikální, 1956.
- [40] MACAULAY, C. E., DLUGAN, A. L. P. Use of digital micromirror devices in quantitative microscopy. *Proc.SPIE*, ročník 3260, 1998, s. 3260 – 3260 – 6. Doi: 10.1117/12.307093.